

Les infections à virus de Coxsackie

(Etude critique des méthodes de diagnostic)

THÈSE

PRESENTÉE A LA

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 9 novembre 1955

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

PAR

Gabriel PRADES

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Né le 16 Janvier 1928, à Saint-Etienne (Loire)



IMPRIMERIE GÉNÉRALE LYONNAISE
32, Cours Gambetta
LYON

Les infections à virus de Cocksackie

(Etude critique des méthodes de diagnostic)

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire M. J. LEPINE
 Doyen M. H. HERMANN
 Assesseur^{per} M. J. GATE

PROFESSEURS HONORAIRES

MM NICOLAS, COLLET, CLUZET, BERARD, GUIARD, PIERY, CADE,
 PATEL, LEPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE,
 MOURIQUAND, MAZEL, LEULIER. GARIN.

PROFESSEURS

Clinique Médicale A	MM. FROMENT
Clinique Médicale B	P. RAVAUULT
Clinique Chirurgicale A	SANTY
Clinique Chirurgicale B	WERTHEIMER
Clinique ophtalmologique	BONNET
Clinique urologique	CIBERT
Clinique et prophylaxie de la Tuberculose	DUFOUT
Clinique dermatologique et syphiligraphique	GATE
Clinique neuro-psychiatrique et Hygiène mentale ..	DECHAUME
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie ..	SEDALLIAN
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	GUILLEMINET
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Clinique obstétricale	PIGEAUD
Stomatologie	DUCLOS
Clinique médicale infantile et hygiène du 1er âge ..	BERNHEIM
Clinique oto-rhino-laryngologique	MAYOUX
Physiologie	HERMANN
Anatomie Pathologique	J.F. MARTIN
Physique Biologique, Radiologie et Physiothérapie ..	PONTHUS dét.
	à Beyrouth
Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire ..	ROCHET
Chimie organique et Toxicologie	CHAMBON
Pathologie générale et expérimentale	JOSSERAND
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale	
Anatomie	DELORE
Pathologie interne	GABRIELLE
Chimie biologique et médicale	CROIZAT
Pathologie chirurgicale	ENSELME
Histologie	MALLET-GUY
Pharmacie galénique et matière médicale	NOEL
Médecine du Travail	REVOL
Thérapeutique	BOURRET
Hygiène et action sanitaire et sociale	LEVRAT
Biologie médicale et pharmacodynamie	SOHIER
Botanique et cryptogamie	JOURDAN
Propédeutique chirurgicale	NETIEN
Chimie analytique pharmaceutique	BERTRAND
Pharmacie et Pharmacologie	BADINAND
Médecine légale et déontologie	DREVON
Parasitologie et Pathologie exotique	ROCHE
	X...

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique MM. BANSSILLON
 Physique biologique BERGER



MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Parasitologie	MM. ROMAN
—	COUDERT
Physiologie	CIER J.-F.
—	CHATONNET
Chimie biologique et médicale	CREYSSEL R.
Bactériologie	BERTOYE A.
Pharmacie galénique et matière médicale	DORCHE
Anatomie	DUROUX
Pharmacie et pharmacologie	CIER A.
Hygiène	BENAZET
Anatomie pathologique	FEROLDI
Chimie organique et toxicologie	PERROT

AGREGES EN EXERCICE

Pathologie médicale	GALY
—	GONIN
—	GUINET
—	PONT
—	VIGNON
—	REVOL
—	TRAEGER
Pathologie chirurgicale	MANSUY
—	DARGENT
—	GUILLET
—	MARION Pierre
—	MICHAUD
—	JAUBERT
—	DE BEAUJEU
—	SAUTOT
Ophthalmologie	PAUFIQUE
Obstétrique	MAGNIN
—	MATHIEU J.
—	BURTHIAULT
Oto-rhino-laryngologie	GIGNOUX
Dermato-vénéréologie	THIERS
Urologie	PERRIN
Neuro-chirurgie	LECUIRE
Orthopédie	MARION Joseph
Stomatologie	FREIDEL
Electro-radiologie	PAPILLON
Pédiatrie et puériculture	FRANÇOIS
Thérapeutique	BRETTE
Maladies infectieuses	MONNET

CHARGE DES FONCTIONS D'AGREGE

Médecine légale	COLIN
-----------------------	-------

CHARGES DES FONCTIONS DE MAITRES DE CONFERENCES-AGREGE

Histologie	DUMONT Louis
Physique biologique	MORET

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. les Professeurs : R. SOHIER, Président ; BERNHEIM,
JEUNE, BENAZET, assesseurs.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MA FEMME

A MON FILS

A MON PERE ET A MA MERE

*En témoignage de ma reconnaissance
et de mon affection.*

A MA SŒUR

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR SOHIER

*Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon,
Professeur Agrégé du Val-de-Grâce*

Nous admirons en lui l'Homme, le Savant, et
le Maître. Il nous a fait le grand honneur de
nous confier ce travail.

Qu'il veuille bien agréer nos hommages très
respectueux.

A NOS JUGES,

MONSIEUR LE PROFESSEUR BERNHEIM

*Professeur de Clinique Médicale Infantile
et d'Hygiène du premier âge.*

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGÉ JEUNE

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGÉ BENAZET

Avec nos respectueux hommages.

A NOS MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE DE LYON
ET DES HOPITAUX CIVILS ET MILITAIRES

A MONSIEUR LE MEDECIN-GENERAL GIRAUD

*Chirurgien des Hôpitaux Militaires
Professeur Agrégé du Val-de-Grâce
Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire
et de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A MONSIEUR LE MEDECIN-COMMANDANT BASTIEN

*Chef du Bureau des Etudes
à l'Ecole du Service de Santé Militaire.*

Très respectueux hommages.

A MONSIEUR LE MEDECIN-COMMANDANT BELZ

*Spécialiste des Hôpitaux Militaires
Chef du Service d'Ophtalmologie
de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes
et du Sanatorium Oculaire de Briançon.*

Nous lui sommes très attaché après le stage effectué dans son Service, pendant lequel il sut nous communiquer un peu de sa science et beaucoup de son entrain. Qu'il veuille bien agréer l'expression de notre profond respect.

A MONSIEUR LE MEDECIN-CAPITAINE THALABARD,

Spécialiste des Hôpitaux Militaires

A MONSIEUR LE MEDECIN-CAPITAINE VERGEZ,

Assistent des Hôpitaux Militaires.

A MES CAMARADES ET AUX AUXILIAIRES MEDICALES
DU SERVICE D'OPHTALMOLOGIE

A NOS CAMARADES
DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTE MILITAIRE

AUX COLLABORATEURS ET AU PERSONNEL
DU LABORATOIRE D'HYGIENE

INTRODUCTION

Dès la découverte, par DALLDORF, des virus de Coxsackie (ou virus C), ces nouveaux ultragermes ont été l'objet d'études très approfondies, en particulier aux Etats-Unis. Leurs caractères physiques et biologiques ont été mis en lumière bien avant leur pathogénicité chez l'homme, car, tout d'abord, les infections qu'ils déterminent ont été confondues avec la poliomyélite. On connaît depuis, quelques-unes de leurs diverses manifestations cliniques. Ces virus ont été rencontrés dans de nombreux pays, mais en France, leur étude est assez limitée : on ne retrouve, en effet, qu'une relation d'épidémie Coxsackie à Quimper en 1951 (1), et la thèse de DELPY en 1953, avec un travail sur la fixation du complément dans ces viroses (2-3).

Il a semblé utile à M. le Professeur SOHIER de procéder à des recherches épidémiologiques sur l'incidence de ces infections dans nos régions, recherches dont les premiers résultats ont été rapportés avec BUISSIÈRE (4).

L'intérêt de l'étude des infections Coxsackie est multiple :

1° La connaissance du rôle de ces virus dans certaines manifestations cliniques très polymorphes telles qu'affections fébriles avec douleurs musculaires de type grippal, angines de caractères inhabituels, « gripes d'été », gastro-entérites infantiles indéterminées, algies d'allure rhumatismale, etc..., permettra de rapporter quelques-unes de ces affections à leur véritable cause. Toutefois, leur diagnostic se heurte à maintes difficultés que nous examinerons. Ainsi on tendra à éviter certaines erreurs qui peuvent être fâcheuses, en particulier la méconnaissance d'une « méningite à liquide clair », parfois lymphocytaire, considérée souvent d'emblée comme tuberculeuse, sans preuve suffisante, et traitée comme telle pendant de nombreux mois.

2° L'épidémiologie des infections à virus de Coxsackie a des caractères communs avec celle de la poliomyélite, de même que les deux sortes de virus possèdent des propriétés assez voisines.

Peut-être même l'infection C a-t-elle une influence quelconque sur la paralysie infantile. C'est là l'importante question de l'interférence des virus, qui sera abordée au cours de cette étude.

PATHOLOGIE

HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DES VIRUS C.

L'histoire des virus C remonte à l'été 1947, date à laquelle survint une épidémie de poliomyélite dans la petite localité de Coxsackie, riveraine de l'Hudson (NEW-YORK). Il y eut sept cas de paralysies, dont 2 chez des enfants de 9 ans et 3 ans 1/2. La découverte a comme point de départ l'isolement d'un virus inconnu chez ces poliomyélitiques.

Déjà en 1942, au cours d'une épidémie de poliomyélite à Battle-Hill, JUNGENBLUT et DALLDORF avaient, à Westchester, découvert dans la moelle d'un individu décédé de poliomyélite bulbaire, un virus connu depuis sous les initiales MM. Il serait antigéniquement proche des virus encéphalomyocarditiques. Rarement pathogène pour l'homme, on l'a retrouvé depuis en maints points du globe et chez certains singes.

En 1947, à Albany, DALLDORF et Miss SICKLES (5) étudiaient systématiquement les selles de poliomyélitiques provenant d'un certain nombre d'épidémies, ceci dans le but d'isoler un virus de la maladie de HEINE-MEDIN adaptable aux rongeurs (souris, hamsters), plutôt qu'aux singes, animaux d'expérience fort coûteux. Après de nombreux échecs, avec le hamster notamment, les auteurs décidèrent d'introduire dans leurs essais un autre groupe d'animaux : de jeunes souris à la mamelle. En effet, d'autres études de DALLDORF, faites à Albany précédemment, avaient conclu à la très grande réceptivité de ces animaux, dans certaines conditions, au virus de la maladie de THEILER (souche TO).

D'autre part, MILZER et BYRD (6) avaient constaté que des suspensions de tissu cérébral autolysé facilitaient l'isolement du virus poliomyélitique chez la souris.

C'est pourquoi les auteurs inoculèrent par voie intracérébrale ou intrapéritonéale à de jeunes souris et à d'autres rongeurs des

suspensions de selles traitées, auxquelles étaient ajoutés du cerveau autolysé et de la streptomycine (des animaux témoins étaient d'ailleurs inoculés sans ces derniers adjuvants). Alors que les animaux jusque-là utilisés ne présentaient aucune manifestation morbide, seuls les jeunes souriceaux inoculés par différentes voies, avec deux échantillons de selles du village de Cocksackie, contractèrent une maladie paralytique avec lésions musculaires, sans atteinte nerveuse. Les selles en cause provenaient des deux jeunes malades dont on a parlé, T. T. et K. H., admis à l'hôpital pour une poliomyélite insipiens. En même temps, on constata que le sérum prélevé pendant la convalescence renfermait des principes neutralisant le virus isolé chez le même malade, alors que le sérum prélevé pendant la phase aiguë de l'affection n'en contenait pas.

Ces agents se révélèrent pathogènes exclusivement pour les souriceaux et les hamsters nouveau-nés, contrairement aux virus encéphalomyocarditiques connus jusqu'alors (EMC, Mengo, MM, Columbia SK) et à celui de la maladie de THEILER. Ils étaient antigéniquement particuliers, ne présentant aucune réaction croisée de neutralisation avec ces virus, ou avec les virus poliomyélitiques.

Bien que l'inoculation au singe rhesus ait été négative avec ces deux échantillons de selles, DALLDORF ne mit pas le tableau paralytique sur le compte de ce nouvel agent infectieux, mais suspecta l'infection mixte par le virus poliomyélitique et par un autre ultragerme.

Par la suite, des virus semblables furent isolés maintes fois par DALLDORF et d'autres chercheurs, qui montrèrent l'existence de divers types antigéniques pouvant être séparés en deux grands groupes, A et B, suivant leur pathogénicité sur le souriceau, sans préjuger aucunement d'un pouvoir pathogène chez l'homme. Ils proposèrent de réunir sous l'appellation de « groupe des virus Cocksackie » (ou virus C) ces nouveaux ultragermes, dont les déterminations cliniques ne sont pas encore toutes connues à l'heure actuelle.

PROPRIETES DES VIRUS COXSACKIE.

I. — PROPRIETES PHYSIQUES :

Ce sont de très petits virus, comparables par la taille aux virus poliomyélitiques. D'après les expériences d'ultrafiltration, CUMLEY (7), HIMMELWEIT, FINDLAY et HOWARD (8) estiment le diamètre

des virus Coxsackie en général à 10-15 m μ . Pour MELNICK, les virus B auraient de 15 à 23 m μ . Grâce au microscope électronique et aux méthodes d'ultracentrifugation analytique, BREESE et BRIEFS (9-10) ne trouvent pas de différence appréciable entre les diamètres de deux virus, l'un du groupe A et l'autre du groupe B, et calculent que l'un et l'autre auraient de 28 à 37 m μ , les particules plus petites étant vraisemblablement des éléments de muscles infectés. LÉPINE, au microscope électronique, a obtenu des images du virus C correspondant à des particules d'un diamètre moyen de 25 à 30 m μ (11).

Ces agents infectieux sont très stables. Ils résistent à l'éther, sauf la souche Ohio du groupe B, qui est détruite par 10 à 50 % d'éther agissant pendant 2 heures à 37° (SULKIN et WALLIS) (12). Les antibiotiques n'ont sur eux aucune action nocive. Le sulfate de protamine ne les précipite pas. Ils résistent à de grandes variations de pH et de concentration ionique. Dans les matières fécales humaines, ils sont détruits par un chauffage à 55° C pendant 15 minutes ; en suspension dans l'eau, par une température de 71° 1 pendant 15 secondes. Les virus de certaines souches Coxsackie pourraient survivre dans la crème ou les produits laitiers, aux températures couramment utilisées pour la pasteurisation (KAPLAN et MELNICK) (13). Le lait et la crème protègent de même les virus poliomyélitiques (14). Dans la glycérine et à des températures inférieures à — 20°, ces virus se conservent assez facilement, mais résistent moins s'ils sont desséchés. L'acide chlorhydrique N/10, le formol, détruisent leur activité (MELNICK) (15). Purifié et en suspension aqueuse, le virus Coxsackie A2 est inactivé par le chlore. La quantité de chlore nécessaire serait 7 à 46 fois celle qui tuerait une suspension dans l'eau d'E. Coli. Les matières organiques accompagnant le plus souvent le virus (eaux d'égouts) seraient peut-être susceptibles de le protéger (CLARKE et KABLER) (16).

II. — CARACTÈRES BIOLOGIQUES :

Si les virus C ressemblent aux virus poliomyélitiques par leurs propriétés physiques, leurs caractères biologiques les en distinguent franchement. Leur isolement des matières fécales, des eaux d'égouts, ou d'autres produits virulents, ne serait pas plus difficile, selon DALLDORF, que celui du bacille de Löffler (17).

Primitivement, d'après leur pouvoir pathogène expérimental chez le souriceau nouveau-né, DALLDORF classa les virus Coxsackie en

deux groupes : A et B, les virus A étant myotropes, les virus B lésant plutôt le tissu adipeux et le système nerveux. Les lésions histopathologiques expérimentales déterminées chez les animaux seront étudiées ultérieurement. A l'intérieur de chaque groupe, on distingue aujourd'hui de nombreux types de virus (type 1, type 2...), ceci principalement par des méthodes sérologiques. CONTRERAS et al. dénombrent 16 types en 1952 (18). D'ailleurs, la plupart des auteurs pensent actuellement que ces divers types antigéniques ne peuvent être réunis en une famille véritable, le « Groupe des virus Cocksackie » (WALTON et MELNICK) (19).

Les virus Cocksackie se multiplient en cultures de tissus en produisant des lésions cellulaires. Les premiers isollements de virus C cytopathogènes furent des souches A ; les souches B donnèrent tout d'abord des résultats négatifs (SHAW) (20). Cependant, plusieurs chercheurs avaient observé la croissance et le pouvoir cytopathogène de souches B en cultures de tissus adipeux de souris (STULBERG et al.) (21). Tout récemment, SICKLES, FEORINO et PLAGER (22), ont examiné des souches Cocksackie B (types 1 et 5) en cultures de cellules rénales trypsinées de singe. Les 24 souches B étudiées se montrent toutes cytopathogènes. Les auteurs réussirent en outre à isoler des souches 21 souches B. Les lésions cellulaires furent en général moins importantes qu'avec le virus poliomyélitique. Ces altérations peuvent être observées dans les 3 à 7 jours suivant l'inoculation, le maximum d'effet se produisant entre 4 et 9 jours.

En cultures de tissus humains, WELLER et al. (23) ont remarqué de grandes différences de comportement des virus, suivant les souches étudiées. Certaines produiraient les mêmes altérations que des virus poliomyélitiques ; ce qui compliquerait l'isolement de ces derniers en cultures de tissus, à partir de selles. Les auteurs conseilleraient alors de procéder à une neutralisation par un immunosérum homologue. Ces différences de pouvoir cytopathogène ont été retrouvées par SICKLES et al., pour des souches B en cultures de cellules utérines humaines.

Le tropisme des virus C en cultures de tissus serait différent de leur tropisme « in vivo » : la souche Easton détermine chez l'animal de graves lésions musculaires, alors qu'« in vitro » elle se développe très difficilement sur culture de muscles ; ceci, d'après STULBERG et al. (24), serait un caractère identique à celui du virus Lansing, qui lèse le cerveau des souris mais ne se développe pas

dans les cultures de tissu cérébral. La souche Easton serait aussi une des rares souches Cocksackie à se multiplier sur membrane chorio-allantoïdienne d'œuf incubé (GODENE et CURNEN) (25).

On sait que le pouvoir pathogène expérimental, que possèdent les virus Cocksackie chez les animaux nouveau-nés, est à l'origine de leur découverte. DALLDORF et SICKLES ne réussirent pas à déterminer une infection Cocksackie chez les souriceaux de plus de 12 jours (5). Actuellement, ce caractère de pathogénicité ne paraît plus aussi exclusif. HOWES (26) constate que, pour deux souches (Adélaïde 1 et Conn. 5), la réceptivité du souriceau, en fonction de l'âge, diminue d'abord rapidement et passe par un minimum chez l'animal de 8 jours. Ensuite, la réceptivité s'accroît à nouveau, jusqu'à un maximum vers 3 ou 4 semaines. Ce n'est qu'à partir de cet âge que la sensibilité décroît réellement.

LEVADITI et al. (27), étudiant la pathogénicité d'un virus B chez le souriceau et la souris adulte, pensent que la sensibilité extrême du premier serait de nature cellulaire neuronique, conférée par l'intense vitalité des cellules cérébrales en divisions caryokinétiques fréquentes. Pourtant, le virus ne persiste pas plus de 4 jours dans certains épithélioma de la souris (28). Divers artifices ont permis de rendre réceptif l'animal adulte. L'administration de Cortisone à la souris affaiblirait sa résistance vis-à-vis de certaines souches de Cocksackie (SULKIN, WALLIS et DONALDSON) (29), et tendrait même à déterminer des lésions électives de certains organes, tels le myocarde (KILBOURNE) (30). Le tropisme des virus est également susceptible d'une grande plasticité. Comme l'ont fait remarquer DALLDORF et GIFFORD (31), une souche adaptée au pancréas par passages successifs sur souris adultes, peut perdre son tropisme par passages de cerveau à cerveau. De même, le pouvoir pathogène pour le souriceau, d'une souche Cocksackie, se perd rapidement par passages sur furet (32).

Récemment, DALLDORF et GIFFORD (33) ont constaté que les souris gravides étaient sensibles au virus Cocksackie B1 jusqu'à la naissance des petits ; ces derniers sont indemnes et réceptifs à l'infection. Des virus du groupe A auraient donné par contre des résultats négatifs. Les auteurs rapprochent ce fait de l'influence de la grossesse sur la réceptivité à la poliomyélite chez la femme.

Au sujet des relations des virus C avec d'autres virus, on a émis à plusieurs reprises l'hypothèse d'une interférence possible avec le virus poliomyélitique. En expérimentation, on a cru mettre en

évidence une interférence chez la souris : les souches A auraient accru la virulence du virus poliomyélitique, alors que les souches B l'auraient réduite (STANLEY) (34). Des résultats semblables ont été trouvés par SULKIN et al. (35). Par contre, chez le singe, on n'aurait pu prouver aucune interférence entre ces deux sortes de virus (STANLEY) (34), HOWITT et NICHOLS (36). LEVADITI et HENRY-EVENO auraient démontré de même un antagonisme entre le virus de l'encéphalomyélite type Est et le virus C, le premier étant vite dominant dans le cerveau des souriceaux infectés (37). Les mêmes auteurs, avec VAISMAN, poursuivant leurs recherches sur le comportement des virus Coxsackie en présence d'autres agents infectieux, virus neurotropes ou bactéries, montrèrent que *Borrelia duttoni* disparaissait rapidement du mélange avec un virus B inoculé à des souriceaux par voie intracérébrale (38), alors que certains agents, tels ceux de la rage, du louping-ill, de l'herpès, peuvent se développer en symbiose avec les virus C (39-40).

Si, avec divers chercheurs, surtout DALLDORF et GIFFORD, on admet l'existence de deux groupes nettement distincts de virus Coxsackie, on peut classer leurs arguments comme suit :

GROUPE A :

Pouvoir pathogène :

- chez l'homme : principalement Herpangina.
- Souriceau nouveau-né :
 - âge optimum d'inoculation : 1 à 5 jours.
 - incubation assez brève : 2 à 6 jours.
 - uniquement myosite généralisée avec paralysies flasques.
 - Jamais d'atteinte du tissu adipeux, ni d'encéphalite.
- Souris adulte : jamais de pancréatite.

Caractères biologiques :

Taux élevé d'anticorps neutralisants chez l'homme avec 100 ID 50 (1/250) à (1/6250).

Dose minima d'effet mortel (ID 50) d'une suspension de carcasses de souriceaux à 10 % : 10^{-6} à 10^{-8} .

En cultures de tissus : croissance facile, lésions cytologiques +.

Taille : 28 à 37 m μ .

GROUPE B :

Pouvoir pathogène : principalement Maladie de BORNHOLM chez l'homme.

- Souriceau nouveau-né :
 - âge optimum d'inoculation : 1 à 2 jours.
 - incubation : 4 à 12 jours.
 - lésions importantes du pannicule adipeux.
 - encéphalite fréquente.
 - myosite disséminée ou absente.
 - paralysie spasmodique.
- Souris adulte : pancréatite fréquente.

Caractères biologiques :

Taux modéré d'anticorps neutralisants chez l'homme (1/50 à 1/250).

ID 50 de suspension de carcasses à 10 % : 10^{-3} à 10^{-6} .

En cultures de tissus : rarement croissance et lésions cytologiques.

Taille : 28 à 37 mμ.

(Tableau inspiré en partie par TOBIN) (41).

Toutefois, on ne saurait accepter une telle distinction sans faire quelques réserves sérieuses, et cette conception demeure critiquée.

Le pouvoir pathogène des virus C n'est pas aussi nettement caractérisé. Chez l'homme, les virus A peuvent déterminer, non seulement l'herpangina, mais diverses autres maladies fébriles. Chez le souriceau nouveau-né, le tropisme d'un virus est susceptible de se modifier énormément, soit par adaptation de la souche (passages successifs), soit par adaptation de l'animal récepteur (action sensibilisatrice de la Cortisone sur l'organisme entier ou sur divers organes).

La dose minima d'effet mortel (ID 50) peut être modifiée si l'on applique certaines techniques de laboratoire, en particulier l'irradiation X accroît la multiplication du virus dans les organes des animaux (CHEEVER) (42). De même, on le verra, certains adjuvants peuvent agir sur l'antigénicité des virus.

Les cultures de tissus peuvent entretenir les virus B comme les virus A.

Enfin, DEKKING pense même qu'« il y a autant de différence entre un virus A et un virus B de Coxsackie qu'entre le virus de la vaccine et celui de l'herpès » (43).

III. — *L'INFECTION COXSACKIE CHEZ L'HOMME :*

De nombreux auteurs ont déjà décrit en détail une symptomatologie de l'infection humaine et ont, par là-même, contribué à écrire un chapitre nouveau des maladies virales ; mais, souvent, des erreurs interviennent dans l'identification de certaines épidémies ou de cas isolés rapportés à tort au virus C. Nous verrons ultérieurement quelles difficultés surgissent pour porter un diagnostic valable de Cocksackie.

On peut, à la lumière des idées nouvelles, broser un tableau d'ensemble des manifestations pathologiques chez l'homme de l'infection Cocksackie, en ayant fait toutefois certaines réserves.

Il est assez rare de porter un diagnostic étiologique de maladie virale en ne disposant que d'un seul examen clinique ; c'est du moins l'opinion de SABIN et coll. (44). La plasticité des propriétés biologiques des virus, spécialement des virus C, permettait de le supposer. Le rôle des réactions de l'hôte, le problème de sa résistance, sont extrêmement variables, et ces phénomènes ne sont pas tous clairement expliqués.

Il y a plus, le groupe des virus Cocksackie est sans doute appelé un jour à se démembrer ; la plupart des auteurs pensent que ce groupe est tout à fait hétérogène. Rien d'étonnant que ces virus déterminent des affections polymorphes. C'est pourquoi il semble inopportun de parler de « Maladie de Cocksackie » pour désigner en général toutes les déterminations pathologiques d'un groupe de virus différents (KILBOURNE) (45). On pourrait cependant réserver ce terme aux quelques manifestations aujourd'hui classiques de ces infections pouvant faire suspecter cliniquement un diagnostic étiologique ; elles forment ce que nous appellerons les formes typiques de l'infection C.

I. — LES FORMES TYPIQUES :

A. — LA MALADIE DE BORNHOLM

Sa connaissance est bien antérieure à la découverte des virus C ; ceux-ci furent mis en cause pour la première fois en 1949 par CURNEN et al., puis par FINDLAY (46-47), à l'occasion de contaminations de laboratoire.

Elle a porté jadis des noms très différents : FINSEN avait relaté une épidémie de « pleurodynies » sévissant en Irlande entre 1856

et 1865. En 1872, en Norvège, DAVE observait un « rhumatisme musculaire de poitrine » ; DABNEY, aux Etats-Unis, parlait de « poigne du diable » (devil's grip), REILLY, en 1921, de « névrite intercostale ».

Mais la description classique de cette maladie est celle qu'en fit SYLVEST, de Copenhague, en 1930, lors d'une de ces épidémies de myalgies survenant dans l'île danoise de Bornholm. Il la nomma « Myosite aiguë épidémique » ; elle était connue en Suède et au Danemark sous le nom de « Maladie de Bornholm ». SYLVEST montra qu'elle était de même nature que ces maladies mystérieuses observées par ses prédécesseurs (48).

C'est une affection estivo-automnale, habituellement épidémique. Sa période d'incubation serait courte, de l'ordre de deux à quatre jours.

Elle débute brusquement, le malade se souvient de l'heure même de l'apparition des premiers symptômes.

Les signes fonctionnels sont au premier plan : la douleur brutale siège en général à la partie inférieure du thorax au niveau des fausses côtes, ou à la partie supérieure de l'abdomen. Atroce, poignante, à type d'écrasement, de crampe exquise, elle arrache parfois des cris au patient. Sur un fond de douleur permanente se greffent des paroxysmes déclenchés par le moindre mouvement, la toux, le rire, les mouvements respiratoires. Le malade s'immobilise donc, retenant même sa respiration, le diaphragme paraissant intéressé. Parfois la topographie est différente, la douleur affectant l'épaule, la nuque ou même les lombes, la région précordiale, la région appendiculaire. Plus rarement, le tableau est d'autant plus trompeur que le malade présente des vomissements, ou se plaint de nausées, de céphalées.

A l'opposé, les signes physiques sont extrêmement peu évocateurs : le faciès est normalement coloré, mais il existerait souvent de l'angoisse, un état vertigineux. Un mouvement fébrile léger se dessine le premier jour : la température atteignant rarement plus de 38° C, est en général de courte durée. Le pouls, la tension artérielle, sont normaux.

A l'examen, le groupe de muscles douloureux apparaît immobile, tendu, contracturé. RONSE (49) a observé dans certains cas des fibrillations, et même des myoclonies. Souvent il existerait de

l'hyperesthésie cutanée. Certains auraient perçu, à la palpation, des nodules intra-musculaires de taille variable (lentille, œuf de pigeon).

Habituellement il n'y aurait pas de signe neurologique, ou bien un réflexe aboli ou exagéré. Mais parfois RONSE a remarqué une déviation des réflexes plantaires (signe d'Oppenheim, de Chaddock, de Gordon).

Les examens de laboratoire usuels seraient normaux (examen des urines, VS, hémogramme). A la radioscopie, on pourrait voir l'immobilité d'une hémicoupe diaphragmatique. L'électro-diagnostic révélerait l'intégrité des neurones moteurs, mais une hypo-excitabilité musculaire.

L'évolution est, en règle, assez rapide vers la guérison : après deux ou trois jours, la phase aiguë est terminée ; en un mois environ, toute douleur a disparu. A la convalescence, on verra subsister un peu d'asthénie et d'apathie. La maladie, quoique d'allure dramatique au début, est essentiellement bénigne. Cependant, peuvent survenir, à intervalles variables, des rechutes pénibles, pendant plusieurs mois. Certains auteurs ont noté d'autres signes, en particulier un épanchement pleural fugace, ainsi que des séquelles peu importantes : algies, amyotrophies temporaires.

Ceci est le tableau typique de la maladie de Bornholm. Le virus Coxsackie mis en cause appartiendrait le plus souvent au groupe B de DALLDORF.

B. — L'HERPANGINA

Elle fut d'abord décrite et nommée par ZAHORSKY en 1924 (50-51). C'était une maladie épidémique, d'étiologie inconnue, frappant surtout les enfants de moins de 10 ans, plus volontiers en été.

Le tableau clinique est celui d'une infection aiguë, débutant brusquement par une fièvre élevée et même des convulsions. Le malade est prostré, anorexique. La dysphagie est intense. A l'examen : « la gorge et l'arrière-gorge présentent de petites vésicules, ou, si celles-ci ont été rompues, de petites ulcérations. Elles apparaissent sur les piliers antérieurs du voile, les amygdales, le pharynx et les bords du voile du palais. Le nombre des lésions peut aller de 2 à 20. La maladie peut être aisément confondue avec une stomatite ulcéreuse, qui débute parfois dans la gorge ». Cette affection

est de brève durée : tous les symptômes s'amendent en quelques jours. En 1950, HUEBNER et al. (52) eurent l'occasion d'observer une épidémie d'herpangina dans une communauté suburbaine du Maryland, chez des enfants ; ils décrivaient une affection fébrile de courte durée, en insistant sur la découverte, chez ces jeunes malades, de vésicules et de petites ulcérations pharyngées. Chez 32 malades sur 37, on isola des souches Cocksackie du groupe A de DALLDORF. Bien plus, une réaction anticorps spécifique fut démonstrative chez 4 malades éliminant le virus, ainsi que chez 15 autres malades présentant un syndrome d'herpangina. Une enquête épidémiologique avait révélé aux chercheurs que, pendant l'année précédant la date de l'épidémie, on n'avait jamais pu isoler de virus C dans cette même communauté à un moment quelconque. La concomitance de l'épidémie d'herpangina et de l'apparition de virus Cocksackie plaide fortement en faveur du rôle étiologique de ces agents dans l'affection.

L'herpangina serait plus volontiers rapportée aux virus Cocksackie du groupe A.

PARROT et coll., en juillet-août 1950, étudièrent 22 malades âgés de 6 mois à 8 ans. Les auteurs insistent sur le diagnostic différentiel clinique avec la *gingivo-stomatite herpétique*. D'après PARROT, on peut retenir les différences cliniques suivantes (53) :

	<i>Herpangina</i>	<i>Gingivo-stomatite herpétique</i>
Etiologie :	Virus Cocksackie A.	Virus de l'herpès.
Age :	1 - 7 ans ; rarement adulte.	1 - 7 ans ; fréquemment adulte.
Saison :	Été. Mode épidémique seulement.	Toute l'année. Maximum hiver ; cas sporadiques.
Début :	rapide.	+ progressif.
Fièvre :	37° 8 - 40° 5.	37° 8 - 39° 5.
Douleur bucco-pharyngée :	légère.	importante.
Pharyngite :	inflammatoire simple	atteinte exceptionnelle.
Autres s. :	vomissements.	adénopathie locale ; gingivite hémorragique ; haleine fétide.

Herpangina

*Gingivo-stomatite
herpétique*

Lésions buccales ou pharyngées :

— nombre :	2 - 14 ou +.	petit nombre.
— type :	vésicule ulcération blanc-grisâtre ; aréole.	vésicule ulcération blanc-jaunâtre ; pas d'aréole.
— local. :	Piliers antérieurs du voile.	langue, gencives labiales, buccales et sublinguales ; rarement voile, pharynx, larynx.
Durée :	3 - 6 jours.	10 jours.

Examens de laboratoire :

Herpangina :

virus Cocksackie A dans les selles, pathogène pour souriceaux nouveau-nés,
augmentation des anticorps sériques.

Isolément : 19 fois sur 22 (toutes souches groupe A).

86 % : selles.

59 % : prélèvement anal.

45 % : prélèvement pharyngé.

Anticorps neutralisants : une augmentation a été mise en évidence vis-à-vis du virus isolé chez le même malade pour 70 % des cas.

Jamais de signes méningés cliniques. Une seule P. L. pratiquée se montra normale.

(Résultats de PARROT).

Gingivo-stomatite herpétique :

virus herpétique provoquant une kérato-conjonctivite chez le lapin. Inclusion intranucléaire acidophile dans la cornée infectée. Les lapins infectés sont ultérieurement immunisés contre l'herpès.

II. — LES FORMES ATYPIQUES.

Si la myalgie épidémique et l'herpangina sont deux maladies dont l'étiologie est aujourd'hui admise, ce ne sont pas les formes

les plus fréquentes des infections Coxsackie. On estime de même dans la poliomyélite, qu'il survient environ un cas de paralysie pour mille cas d'infection ; ceci paraît être la règle dans les maladies virales comme dans les infections bactériennes. Il existerait, comme on sait, un lien continu entre les « formes typiques », les formes dites « atypiques ou frustes », les « formes inapparentes », cliniquement muettes (mais qu'un examen de laboratoire peut quelquefois déceler), et enfin des « porteurs », si toutefois le véritable portage par un sujet sain existe.

Au cours de divers syndromes aigus d'allure infectieuse, des virus Coxsackie ont été isolés, et souvent on a pu mettre en évidence une réaction anticorps sérique correspondante. Ainsi, l'intervention d'autres ultragermes ou bactéries étant écartée, on a parfois réuni un faisceau de résultats concordants en faveur du rôle étiologique des virus C dans de nombreuses affections très différentes.

A) *Méningite aiguë à liquide céphalo-rachidien clair.*

Ce syndrome de méningite aiguë, en général spontanément curable, porte des noms divers, selon les auteurs : « méningite aiguë lymphocytaire », « méningite aseptique », etc... Nous adoptons avec R. SOHIER le terme de « *méningite aiguë à liquide céphalo-rachidien clair* » (4), pour désigner ce syndrome d'étiologie très diverse.

Pour les auteurs anglo-saxons, les virus C seraient assez souvent en cause dans ces méningites, ou méningo-encéphalites, des signes méningés, cliniques ou biologiques étant associés parfois à la myalgie épidémique ou à l'herpangina (GABINUS (54), CURNEN et al. (46), JOHNSON et LINDAHL (55), OKER-BLOM, 1952 (56), GALPINE et Mc CRAE (57), TOBIN) (41).

Pour le dépistage de ces formes méningées, il est nécessaire de ne pas confondre une contracture douloureuse des muscles de la nuque, symptomatique de la myalgie épidémique, avec une raideur vraie. Dans la myalgie de SYLVEST, la nuque, malgré la douleur, peut être encore fléchie. Le caractère de la douleur, comme le fait remarquer HUBERT (58), est un autre élément de diagnostic clinique : « La souffrance intolérable de la myalgie vertébrale à Coxsackie ne peut pas se confondre avec la douleur sourde, continue, à type de courbature, qui accompagne le syndrome méningé » (cité par LEROY) (59).

En général, les symptômes s'amendent en une semaine. VESLOT et PLEY auraient vu un cas de méningite à Cocksackie ayant laissé des séquelles douloureuses persistant après 3 ans (60).

En France, R. SOHIER estime que les virus C interviennent assez rarement dans le déterminisme des méningites aiguës à liquide clair (4).

B) *Etats fébriles divers.*

Les infections Cocksackie réalisent des tableaux cliniques extrêmement variés, à en juger par les descriptions qu'on en a faites. Ce qui domine, c'est la douleur de type musculaire, classiquement de siège diaphragmatique. D'après HOPKINS (61), qui insiste sur la diversité des symptômes, les enfants présenteraient volontiers une scène abdominale, du moins chez eux pourrait-on trouver régulièrement une « sensibilité abdominale siégeant avec une particulière fréquence juste sous le rebord costal et l'appendice xyphoïde. Il n'y a aucun véritable signe d'atteinte viscérale, que la maladie peut d'ailleurs simuler. Un frottement pleural rude est quelquefois perçu ». Mc NEISH (62) a trouvé un frottement pleural chez un malade sur cinq. On peut observer des cas très légers, avec un vague malaise et une douleur à l'inspiration profonde. La fièvre peut affecter des types variés. C'est la raison pour laquelle on a pu, avec d'autres examens plus précis, imputer aux virus C des états fébriles avec « courbature » de type grippal. STEIGMAN et al. avaient décrit, en 1947, une épidémie de « grippe d'été » survenue chez des enfants à Cincinnati, et qui semble avoir été provoquée par des virus Cocksackie (63). WEBB et WOLFE (64-65) observèrent en Louisiane du Nord, durant les étés de 1946, 1947 et 1948, une maladie fébrile épidémique chez des enfants, qu'ils appelèrent « fièvre de trois jours » : l'affection, caractérisée par une fièvre élevée avec des céphalées, était de brève durée.

Les tableaux les plus inattendus ont été décrits à propos des infections Cocksackie : on leur a même attribué des cas de péricardite aiguë (BOWER et al.) (66), de polyarthrite, de dermatomyosite (ZWEYMULLER) (67), de gastro-entérite infantile (VERLINDE et KHING TING) (32), d'encéphalite (STANLEY) (68), et même de pseudo-poliomyélite (VIVELL et al. (69).

Ainsi, nous voyons que la symptomatologie des infections Cocksackie est extrêmement polymorphe. Nous ne saurions donc envisager un diagnostic clinique différentiel. Nous étudierons avec les

considérations épidémiologiques le problème du portage et les infections inapparentes.

Traitement.

Le traitement des infections C ne saurait être que symptomatique (anti-algiques et sédatifs divers). RONSE aurait obtenu quelques bons résultats par l'administration de Prontosil rouge (49). LEROY préconise surtout les vitamines B1 et B12 (59).

PROCEDES D'ETUDE

En face des problèmes d'ordre nosologique, épidémiologique, scientifique, que pose l'infection Coxsackie, il importe d'examiner, à la lumière des travaux entrepris dans ce domaine, les procédés d'étude qui ont conduit les chercheurs à définir des méthodes de diagnostic, soit pour faire la preuve d'une infection récente par un virus C, soit pour classer les ultragermes en cause dans le cadre de la virologie, soit encore, dans un but épidémiologique, pour mettre en œuvre des enquêtes sérologiques dans certains groupes de population.

On distinguera, d'une part, des MÉTHODES DIRECTES, visant à l'isolement du virus causal de l'infection en partant d'un matériel infectieux approprié, puis à son indispensable identification par des *tests spécifiques*, tels la neutralisation, ou les tests de protection croisée, ou *non spécifiques*, consistant à étudier les lésions histopathologiques déterminées chez l'animal d'expérience ; d'autre part, des MÉTHODES INDIRECTES, visant à faire la preuve d'une infection Coxsackie, soit par le test de *neutralisation* sur un animal sensible, soit par la réaction sérologique de *fixation du complément*, spécialement adaptée à cette fin.

Nous essaierons ensuite par une étude critique, de nous faire une idée de la valeur de ces différentes méthodes dans leurs applications pratiques.

I. — L'ISOLEMENT DU VIRUS

On connaît la relation du premier isolement d'un virus de Coxsackie, effectué par DALLDORF et SICKLES, en 1947, à partir des selles de deux enfants présentant des symptômes de poliomyélite.

A) *Principe de la méthode en général.*

A partir d'un fragment de matières fécales, ou d'une autre source de virus (lavage pharyngé), le prélèvement étant fait pen-

dant la phase aiguë de l'affection, on réalise un extrait qu'on inocule par voie intra-musculaire ou intra-péritonéale à une portée de souriceaux de moins de 48 heures, ou à de jeunes mérions d'une semaine ou deux (LÉPINE) (11). Lorsque les animaux succombent on peut procéder à l'examen des lésions histopathologiques caractéristiques de l'infection, ou encore à la purification des virus à partir des tissus animaux, puis à l'identification de ces agents.

B) Sources.

Dans les épidémies d'infection C, le virus peut être facilement isolé des lavages de gorge pendant les tout premiers jours de la maladie (TOBIN), et des matières fécales pendant la première semaine, et souvent plus tard. Cependant, comme le fait remarquer DALLDORF (70), les lavages de gorge sont susceptibles de contenir le virus herpétique, auquel les souriceaux sont extraordinairement sensibles, et constituent donc une cause d'erreurs non négligeable.

Bien que HOWITT (71) ait relaté la présence de virus C dans le sang, dans le LCR, et dans divers tissus humains, il convient d'accueillir avec quelque réserve ces observations pour lesquelles DALLDORF et GIFFORD (72) soupçonnent une contamination très probable au laboratoire du matériel examiné. Sur 87 LCR examinés en 1948 et 1949 par ces auteurs, aucun échantillon ne contenait le virus, bien qu'il ait été isolé des selles de 3 des malades. De même, 69 spécimens de sang furent testés sur souriceau sans résultat probant. 3 des prélèvements étaient faits sur des cas nettement positifs.

Cependant, LÉPINE et coll. (73) ont démontré que le virus C était présent dans les lésions musculaires chez l'homme, et tout récemment, on aurait réussi à l'isoler, soit du sang humain (TAYLOR et coll.) (74), soit du LCR de méningite à liquide clair (HUMMELER et coll.) (75), DUNCAN et coll.) (76).

C) Les méthodes.

En fait, la source la plus fidèle pour l'isolement de virus Cocksackie est le prélèvement de selles à la phase aiguë de la maladie. Le procédé usuel est d'émulsionner les matières dans une solution saline, de centrifuger pour éliminer les grosses particules;

on traite ensuite le liquide surnageant toute une nuit à l'éther pour détruire les bactéries, puis on centrifuge encore pour faire déposer les quelques bactéries survivantes et les fins débris (TOBIN) (41). Après adjonction de streptomycine et de pénicilline l'extrait est inoculé par voie sous-cutanée, intra-péritonéale, ou intra-cérébrale, aux souriceaux.

On a employé aussi des méthodes de concentration du virus par centrifugation à grande vitesse (CLARK et al.) (77), ou par précipitation au sulfate d'ammonium (GARD et JOHNSON) (78).

D) Résultats obtenus.

I. — INFECTION EXPÉRIMENTALE

Si le virus est présent, des signes de maladie apparaissent en 3 à 6 jours avec les virus du groupe A, et en 5 à 12 jours avec ceux du groupe B, suivant le titre et la souche en cause. Le passage peut être poursuivi de souriceaux à souriceaux, en utilisant le cerveau ou les carcasses d'animaux infectés, dans le cas des virus B, ou les carcasses seules, pour les virus A (TOBIN) (41). Les titres infectants obtenus avec ces derniers seraient plus forts qu'avec les agents du groupe B.

D'après MELNICK et GODMAN (79), le virus apparaîtrait dès le deuxième jour dans les matières des souriceaux inoculés expérimentalement, ainsi que dans certains tissus. Les selles seraient infectantes pendant 8 jours environ.

Chez le chimpanzé inoculé par voie orale avec divers virus Cox-sackie, on peut mettre en évidence le virus, d'après MELNICK et KAPLAN (80), dès le deuxième ou le quatrième jour : dans le sang pendant quelques jours, dans le pharynx pendant environ une semaine. Dans les selles, le titre infectieux est élevé dès après l'absorption, se maintient pendant 25 jours entre 10^{-2} , et 10^{-3} , ce qui indique sa multiplication. Ces animaux deviennent résistants à l'épreuve orale par un ultragerme du même type, mais non par un virus hétérotypique. Des animaux recevant une solution infectante diluée à 10^{-6} pourraient devenir porteurs de virus.

II. — INFECTION SPONTANÉE

Nous verrons ultérieurement quelles sont les difficultés qui surgissent lorsqu'on tente d'établir un rapport entre la présence d'un virus C et l'existence de symptômes cliniques. Néanmoins, le rôle

pathogène des virus Cocksackie ne paraît plus douteux, aussi bien dans leurs déterminations cliniquement décelables dont le médecin doit suspecter et rechercher l'origine, que dans leurs infections inapparentes, domaine de recherche de l'hygiéniste plus spécialement.

a) *La Cocksackie-maladie.*

Ce sont les contaminations de laboratoire qui ont attiré l'attention sur le rôle possible des virus C dans certaines manifestations extra-neurologiques évoquant la pleurodynie, ou myalgie épidémique (KILBOURNE (45), JOHNSON (81), CURNEN) (82). Dans ce cas, l'isolement apportait une preuve étiologique à peu près irréfutable. KILBOURNE observa, chez des travailleurs de laboratoire, les symptômes typiques de la pleurodynie dans 3 cas sur 6. De ces 3 cas, il isola un virus Cocksackie du groupe B. D'autres malades se plaignaient de symptômes divers : malaises, céphalées, dysphagie. L'affection fut toujours bénigne, non compliquée. L'un des malades de JOHNSON présentait une méningo-encéphalite ; chez les trois autres, l'affection revêtait l'aspect clinique d'une myalgie épidémique. Un de ces derniers présentait une double infection par les virus des groupes A et B, avec présence dans le pharynx de vésicules qui rappelaient l'angine dite « herpétique ». Les autres malades étaient infectés par des virus du groupe A. Des preuves sérologiques ont encore appuyé la preuve de l'infection. Des enfants arriérés, contaminés avec les virus B, présentèrent tous les symptômes d'une myalgie épidémique ; un autre n'eut qu'une infection subclinique.

Comme les premiers isolements des virus C furent faits chez des malades atteints de poliomyélite paralytique, cette affection a été spécialement étudiée vis-à-vis de la coxsackie, et de nombreuses souches C ont été isolées de cas de paralysies, comme de cas non paralytiques. On a ultérieurement démontré l'intervention de virus de Cocksackie dans d'autres affections plus ou moins spécifiques. Il convient surtout d'étudier les cas d'Herpangina et de maladie de Bornholm associés aux virus C.

Herpangina.

HUEBNER et coll. (83) ont montré que cette affection était associée à de nombreux virus du groupe A, et ils les ont trouvés soit dans les fecès, soit dans les lavages de gorge, dans 85 % des cas d'Herpangina, alors qu'aucun ne fut décelé dans la même

population étudiée l'année précédente. KRAVIS et coll. (84) en rapportèrent une autre épidémie aux Etats-Unis, due également aux virus A, cependant qu'en Grande-Bretagne, STUART-HARRIS isolait d'un cas d'herpangina un virus du type A 10 (cité par TOBIN).

Maladie de Bornholm.

Depuis que l'on démontra pour la première fois le rôle déterminant des virus Coxsackie dans cette affection (WELLER et coll.) (85), on a très souvent isolé des virus de ce genre dans la myalgie épidémique. On les a trouvés dans certaines épidémies en Suisse (86), en Hollande (87), en Belgique (49), en France (1), Israël, Suède (78-54), Australie (88) et Grande-Bretagne (62-89-90), de même qu'aux U.S.A., et récemment au Canada (DEMPSTER) (91).

En France, lors d'une épidémie survenue à Quimper en 1951, DESSE rapporte 27 cas cliniques, parmi lesquels on aurait dénombré 12 souches de virus C. GABINUS, en Suède, sur 20 cas examinés, isola des virus C dans 7 échantillons de selles, 2 lavages de gorge et un LCR (54). Le même type de virus B (Conn. 5 = DALLDORF B 1) fut isolé dans des cas de pleurodynie et de méningite à liquide clair.

b) Poliomyélite.

HUEBNER et coll. (83) échouèrent dans l'isolement du virus des selles de 170 poliomyélitiques en 1950 et 1951, puis ne mirent en évidence ce virus que dans 3 cas sur 76. Tous les isolements étaient faits après un séjour du malade à l'hôpital de 3 à 9 jours, ce qui pouvait suggérer que les hôpitaux agissaient vraisemblablement comme centres de dissémination de certains virus Coxsackie. Sur 396 cas de poliomyélite, GARD et JOHNSSON ne retrouvèrent le virus C que dans 1 % des cas. PARROT n'eut aucun résultat positif dans 131 cas.

Done, la fréquence des premiers isolements Coxsackie chez les poliomyélitiques (RHODES) (92), MELNICK (93), STANLEY (94-95), n'apporte pas la preuve que ces agents jouent un grand rôle dans la symptomatologie de la maladie de HEINE-MEDIN. Bien plus, on a émis l'hypothèse d'une interférence possible entre les virus des deux maladies. Ce problème n'est pas encore pleinement élucidé.

Autres affections.

— *Méningite à liquide clair.*

Le même virus Cocksackie a été isolé de cas de maladie de Bornholm et de cas de méningite, aux U.S.A. et en Angleterre. Dans le N.-O. de ce pays, pendant l'été 1951, une petite épidémie de méningite éclata en juin-juillet. On fit 4 isoléments de virus Cocksackie de 3 types différents : 3 du groupe B, un du groupe A (41). OKER-BLOM et POHJANPELTO (96), en 1950, ont isolé la souche A 10 Cocksackie des selles de 2 malades sur 5 qui présentaient un syndrome de méningite à liquide clair.

Il semble que les virus C n'interviennent pas fréquemment dans les méningites à liquide clair, si l'on en juge par la rareté avec laquelle ils ont été isolés dans ces cas.

— « *Maladies mineures* ».

Des virus Cocksackie ont été isolés au cours d'indispositions survenant surtout en été, mais en de telles circonstances le rôle de ces agents n'est pas encore solidement établi (FORRESTER) (97), MELNICK, WALTON et MYERS) (98). Lors d'une petite épidémie fébrile d'angine inconnue chez les adultes, FUKUMI et YOKOTA (99) ont isolé des selles 6 souches Cocksackie chez les malades, et chez les nourrissons d'une crèche, décelant ainsi des malades et des porteurs sains. En effet, des sujets sains peuvent éliminer le virus: en Egypte, où l'infection poliomyélitique est endémique et peut survenir à un âge très précoce, MELNICK et AGREN (100), examinant 36 prélèvements du rectum chez des nourrissons normaux, isolèrent une fois un virus poliomyélitique, une fois un virus non identifié et 9 fois un virus Cocksackie.

Isolement des virus Cocksackie dans le N.-O. de l'Angleterre
(Août 1950 - Mars 1952)

<i>Affection</i>	<i>Selles Nb de cas examinés</i>	<i>Nb de virus isolés</i>	<i>% isol.</i>	<i>Types</i>
Cas sporadiques de myalgies :	5	0	0	—
M. de Bornholm épidémique :	9	3	33,3	B3
Méningite à liquide clair	47	4	8,5	B3 B ? A2
Autres affections (D'après TOBIN.)	26	1	3,8	A2 A1

II. — IDENTIFICATION DU VIRUS

Après avoir isolé un virus de Coxsackie à partir d'une souche donnée, les selles d'un malade le plus couramment, il est nécessaire de procéder à l'IDENTIFICATION de la souche en cause. Pour ce faire, on dispose de deux sortes de méthodes :

— Les unes *spécifiques* : le test de neutralisation de la souche virulente par un immunsérum connu, le mélange étant inoculé à un animal sensible, le souriceau nouveau-né. On verra le détail de ce test avec l'étude des méthodes indirectes de diagnostic.

— Les tests de protection croisée.

— D'autres méthodes, qu'on peut qualifier de « *non spécifiques* », visent à identifier le virus isolé en étudiant ses déterminations histopathologiques sur un animal de laboratoire approprié.

A) *Tests de protection croisée* chez les souriceaux nés de mères vaccinées.

On ne peut envisager la vaccination d'un souriceau, l'état réfractaire naturel apparaissant très rapidement avec l'âge. Mais on sait, depuis les travaux d'EHRlich, que des substances immunisantes sont transmises passivement à la descendance animale par l'allaitement (101). Les souriceaux nés de mères vaccinées contre un type de virus C sont ainsi résistants à l'infection spécifique par ce virus. MELNICK, CLARKE et KRAFT ont utilisé cet artifice pour le typage des virus Coxsackie (102). Pour identifier une nouvelle souche les auteurs emploient 3 lots de souriceaux :

1° Des souriceaux nés de mères non vaccinées, qu'on inocule avec 100 ID 50 de la souche en question : tous doivent succomber.

2° Des groupes de souriceaux nés de mères vaccinées avec des types de virus connus, chaque groupe étant inoculé avec 100 ID 50 du virus correspondant au vaccin : aucun souriceau ne doit succomber à une infection coxsackie.

3° Les souriceaux-tests : des portées provenant des mêmes groupes de souris-mères que ci-dessus. Les souriceaux ayant une immunité homotypique ne doivent pas succomber à l'infection coxsackie.

Le taux des anticorps maternels doit être maintenu par des injections répétées de vaccins à 3 ou 4 semaines d'intervalle.

B) *Lésions expérimentales :*

Au point de vue histopathologique, on peut distinguer schématiquement 2 groupes de virus : A et B (DALLDORF) (103), GIFFORD et DALLDORF) (104) ; certaines souches, tout en ayant les caractères fondamentaux du groupe auquel elles appartiennent, peuvent avoir des propriétés spéciales. Les virus du groupe A déterminent chez les souriceaux non sevrés une myosite généralisée des muscles volontaires, sans lésion notable des autres tissus. Cet aspect microscopique coïncide avec le tableau clinique de paralysies flasques.

Si les virus du groupe B produisent chez le souriceau une myosite d'ailleurs très limitée, les animaux succombent le plus souvent avec une paralysie de type spastique, les lésions trouvées à l'autopsie affectant, selon les souches, tantôt le tissu adipeux, surtout le pannicule interscapulo-mammaire, tantôt le pancréas, ou encore le myocarde, le foie, le rein. Les muscles atteints présentent une dégénérescence hyaline, avec une infiltration cellulaire dense traduisant un processus actif de réparation. Les virus B produisent une nécrose étendue du tissu cérébral qui peut intéresser tout l'encéphale. Dans le tissu adipeux, ils provoquent une dégénérescence centripète des lobules graisseux. On a parfois observé, dans ces lésions, des zones calcifiées. La pancréatite, qui peut se voir chez des souris adultes (PAPPENHEIMER, KUNZ et RICHARDSON) (105), se traduit cliniquement, par un amaigrissement important des animaux qui peut progresser jusqu'à la mort, mais sans signe évident de maladie ; histologiquement, par un processus inflammatoire étendu, avec nécrose des acini remplacés par de la graisse, les îlots de Langerhans étant respectés.

Certaines souches C pourraient produire électivement des hernies abdominales chez les souriceaux nouveau-nés (LÉPINE) (106). Il est classique d'utiliser ces jeunes animaux comme tests, mais d'autres espèces se sont révélées sensibles à l'inoculation des virus Coxsackie, tels les jeunes hamsters, par exemple. Dès 1952, LÉPINE, CHAUMONT et BLUSSON ont démontré la réceptivité extraordinaire des jeunes mérions, chez lesquels on peut mettre en évidence des lésions musculaires jusqu'à l'âge de 6 mois (107). Récemment, VERLINDE et TING (32) ont observé le pouvoir pathogène de types A et B de virus Coxsackie chez le furet nouveau-né,

inoculé par la voie sous-cutanée. Le virus du groupe A expérimenté produisait chez cet animal de légères lésions musculaires, alors que celui du groupe B déterminait une nécrose pancréatique, et la lyse du cortex cérébral et des cellules nerveuses.

Les virus Cocksackie provoquent des réactions anticorps tout comme les autres virus ; c'est pourquoi nous devons étudier la façon de mettre en évidence ces modifications sérologiques. Nous rangeons dans les MÉTHODES INDIRECTES de diagnostic le test de *neutralisation* et la réaction sérologique de *fixation du complément*, de même certains procédés moins communément employés, tels les tests de *protection croisée* des souriceaux nés de mères immunisées.

III. — LE TEST DE NEUTRALISATION

Il fut adapté à l'étude des virus C dès leur découverte, par DALLDORF et SICKLES, en 1948 (5), avec PLAGER et GIFFORD, 1949 (108). La technique de ce test a été décrite en détail par MELNICK et LEDINKO (109-110-111), en 1950.

Principe : Pour l'identification d'un virus, on détermine le titre de la souche en cause qui est neutralisé par une quantité constante de sérum de référence pur ou dilué au 1/5 (110). Quant au titrage des anticorps neutralisants en vue du diagnostic d'une infection, il se pratique de la façon suivante : on calcule d'abord la dose léthale 50 % sur quelques lots d'animaux (ID 50), puis on inocule aux souriceaux un mélange de virus (le plus souvent 100 doses léthales 50) et de sérum à expertiser, à des dilutions croissantes. On note alors quelle est la plus forte dilution de ce sérum qui neutralise les 100 ID 50. L'indice de neutralisation d'un sérum est égal à la différence entre les taux neutralisants d'un sérum de cheval normal et du sérum étudié.

Technique : MELNICK et LEDINKO inoculent une suspension de virus (constituée par un broyat de muscles et d'os de souriceaux infectés) à des souriceaux de moins de 24 heures, ceci par la voie intrapéritonéale, ou mieux sous-cutanée, entre les deux omoplates. Ils utilisent des lots de huit animaux pour une mère ; ceux-là, albinos ou non, étant mélangés au préalable et répartis au hasard dans les différents groupes, ne révèlent d'ailleurs pas de différence appréciable quant à leur réceptivité. Les souriceaux ainsi inoculés sont observés chaque jour pendant une période de 10 à

14 jours. Pour établir la dose létale 50 par la méthode de REED et MUENCH, les auteurs ne dénombrent que les animaux succombant avec des signes de paralysies. Afin de faciliter le calcul de ID 50, DELPY et al. (2) utilisent des groupes de 5 souris. Les mélanges sérum-virus sont laissés pendant une heure à la température du laboratoire avant d'être inoculés de la même manière à un autre groupe d'animaux.

Comme le font remarquer MELNICK et LEDINKO (111), l'indice de neutralisation est indépendant de la présence ou de l'absence de complément dans le sérum. C'est pourquoi ils inactivent les sérums en les chauffant à 60° pendant 20 mn., détruisant ainsi les facteurs non spécifiques thermolabiles, selon la méthode de BANKER et MELNICK (112). Les anticorps neutralisants étant relativement thermostables ne risquent pas d'être détruits de cette manière : en effet, ils peuvent supporter un chauffage à 65° pendant 30 mn et ne seraient détruits que par une température de 80° pendant le même temps. Le complexe virus-anticorps s'est révélé stable pendant au moins 3 heures à température ordinaire et pendant plusieurs jours à — 20°. Cependant, une simple dilution est susceptible de dissocier partiellement le complexe.

Lorsqu'on augmente la quantité de virus, la quantité de sérum nécessaire à leur neutralisation augmente de même, mais pas de façon tout à fait régulière.

Résultats obtenus.

A. — INFECTION EXPÉRIMENTALE

CONTRERAS et MELNICK (113), étudiant la réaction anticorps chez la souris, observent que les anticorps neutralisants apparaissent « très tôt après l'inoculation », sont encore décelables après 7 mois, et que leur taux ne varie pas sensiblement pendant cette période. VIVELL et SCHAIRER ont pu obtenir chez le cobaye inoculé avec le virus Coxsackie en suspension dans une émulsion d'huile, des immunsérums d'une très grande spécificité de type (114).

B. — INFECTION SPONTANÉE

1) *Coxsackie-maladie :*

Ces résultats, obtenus dans l'infection expérimentale, sont retrouvés par MELNICK et LEDINKO chez l'homme. L'étude d'une

contamination accidentelle chez 6 travailleurs de laboratoire leur montra l'apparition des anticorps neutralisants autour du *cinquième jour de la maladie*, leur taux augmenta très rapidement jusqu'à 1/1.250 environ ; ce taux se maintint de 1 à 3 mois. Mais les anticorps peuvent être décelés parfois 2 ans après le contact infectieux, bien qu'à des taux peu élevés (de 1/50 à 1/250). Chez tous ces malades un contrôle direct de l'infection avait été pratiqué par l'isolement du virus au début de la maladie. Aucun anticorps n'était décelable auparavant.

Pour diagnostiquer une infection humaine, il serait souhaitable de mettre en évidence, comme le propose TOBIN, une augmentation du taux d'anticorps neutralisants, à condition de prélever un premier échantillon de sérum dans les tout premiers jours de la maladie, et un deuxième 10 jours plus tard au moins. Cet auteur a constaté l'apparition des anticorps neutralisants dans le sérum humain entre le *cinquième et le neuvième jours* de l'infection et l'augmentation rapide de leur taux, qui atteint souvent son maximum en quelques jours, puis persiste au moins un an dans le cas des virus B, plus longtemps encore pour le groupe A.

Une augmentation du taux des anticorps neutralisants a été à peu près régulièrement décelée lorsqu'on étudia un sérum précoce et un sérum tardif dans des cas d'herpangina (TOBIN) (41). et de maladie de Bornholm (BURY) (115). Cependant, JOHNSON et LINDAHL (116), dans des cas sporadiques d'herpangina où le diagnostic fut porté cliniquement, ne décelèrent des anticorps neutralisants que dans 4 sérums sur 11. Ces 4 sérums positifs provenaient des seuls sujets chez lesquels un virus Cocksackie avait été isolé.

Au cours de certaines épidémies survenant principalement en été, surtout chez des enfants, on a souvent constaté la présence d'anticorps neutralisant un virus Cocksackie chez les malades (KENYON) (117). MELNICK, WALTON et MYERS (98) relatent l'épidémie d'une affection bénigne, avec fièvre et « mal de gorge », dans le voisinage d'un poliomyélitique, chez des enfants ayant eu des contacts avec le malade. Le sérum de ce malade présenta une élévation de taux d'anticorps neutralisants vis-à-vis du type A2 Cocksackie, virus isolé des selles du sujet en même temps que le virus poliomyélitique. Il est vraisemblable que ce virus A2 ait été à l'origine de l'épidémie, car des sujets-contacts adultes avaient également produit des anticorps neutralisants spécifiques.

On a encore détecté des anticorps neutralisants dans certaines épidémies d'encéphalites (STANLEY et al.) (88), ou dans des affections qualifiées de « poliomyélite atypique » (IVANOVICS et PINTER) (118).

2) Infections inapparentes :

Les premières enquêtes sérologiques prouvant l'existence d'infections inapparentes furent faites par DALLDORF et SICKLES (5), qui montrèrent que dans le village de Cocksackie, sur 10 sujets-contacts avec les 2 cas d'infection C, 5 avaient élaboré des anticorps neutralisant le virus. Depuis, on a souvent mis en évidence la présence d'anticorps neutralisants chez les sujets normaux d'une population donnée. D'après MELNICK et LEDINKO (111), en Caroline du Nord, plus de 80 % des enfants ont de tels anticorps dès la naissance. Cette proportion s'abaisse à 14 % à un an, et s'élève ensuite rapidement, pour atteindre à l'âge de 7 ans les mêmes chiffres que chez l'adulte (80 %). Une augmentation du taux des anticorps neutralisants permit à KILBOURNE de prouver l'existence d'une infection inapparente chez un travailleur de laboratoire qui avait été au contact du virus. BEEMAN, COLE et HUEBNER (119) recherchèrent systématiquement les A. C. neutralisants chez la plupart des habitants de la région où 2 épidémies s'étaient produites deux ans auparavant. Ils constatèrent que le taux des A. C. ne dépendait ni du sexe, ni de la race, mais qu'il s'élevait avec l'âge. Les adultes, en majeure partie, possédaient des A. C. contre de nombreux types.

Dans l'entourage des malades, il est extrêmement fréquent de constater la présence d'A. C. chez des adultes apparemment sains. JOHNSON, dans l'entourage familial d'enfants atteints de méningite à liquide clair chez lesquels il avait isolé un virus C, découvrit des A. C. neutralisant ce virus chez la plupart des membres de la famille (120).

De vastes enquêtes ont été réalisées en recherchant les A. C. neutralisants Cocksackie ; on verra leur intérêt épidémiologique. PAUL, RIORDAN et KRAFT (121), examinant les sérums d'Esquimos du Nord de l'Alaska, constatèrent que seules 2 souches de virus sur 4 étaient représentées par des A. C. neutralisants spécifiques, cette population étant relativement isolée. L'infection Cocksackie du type High-Point (Texas I) était très répandue dans la population, dès l'âge de 4 ans ; quant à la courbe des A. C. Easton (type I de DALLDORF), elle montre une élévation chez les enfants

et les adolescents, jusqu'à l'âge de 20 ans, où elle atteint seulement son maximum. Cette courbe des A. C. Easton, selon les auteurs, serait un peu comparable à celle des A. C. anti-Lansing de nombreuses villes des États-Unis.

STANLEY, DORMAN et PONSFORD (88), dans un travail portant sur une période de 12 ans, ont examiné des mélanges de sérums collectés par le Centre de Transfusion de la Croix Rouge dans la région de Sydney. En employant le test de neutralisation sur souriceaux de moins de 24 heures, ils remarquèrent l'apparition brutale d'A. C. pour la souche K 137, coïncidant avec une épidémie d'encéphalite, alors qu'aucun A. C. n'était décelé auparavant. Deux autres types d'A. C. (anti-B2 et anti-B4) étaient apparus simultanément et leurs courbes de taux étaient comparables, avec un clocher à la même période qu'une épidémie de maladie de Bornholm. Les auteurs étudièrent encore des A. C., non seulement dans la population blanche, mais chez les indigènes de l'Australie centrale et septentrionale, ainsi qu'en Corée, aux Philippines, aux Iles Salomon, Fidji, en Nouvelle-Guinée, en Tasmanie ; ce qui leur permit de faire une carte de la répartition des A. C. Cocksackie dans ces pays. Ces A. C. y sont partout présents, sauf pour la souche encéphalithogène K 137, qui n'a pu être mise en évidence qu'en deux endroits : à Sydney même (et non dans les autres villes australiennes), et dans les Highlands de Nouvelle-Guinée, où les indigènes ont très peu de contacts avec la population blanche.

On peut considérer avec STANLEY et al. que la courbe des taux d'A. C. neutralisants donne une idée approximative de l'étendue d'une infection dans une grande ville. Elle refléterait aussi le degré d'immunité de la population adulte vis-à-vis de l'agent considéré. Le test de neutralisation constitue donc, comme on l'a vu, un excellent moyen de diagnostic de l'infection Cocksackie, en même temps qu'une méthode précieuse d'investigation pour rechercher les infections inapparentes dans des groupes importants de population.

IV. — LA REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT

CASALS, OLITSKY et MURPHY (122) mirent au point, en 1949, la première réaction *in vitro* avec les virus Cocksackie : la réaction de fixation du complément (F.C.), aujourd'hui d'application cou-

rante. Ce sont les difficultés matérielles présentées par le travail sur les souriceaux, qui conduisirent ces chercheurs à mettre au point une technique *in vitro* susceptible de servir à l'identification du virus. Deux souches Coxsackie étaient étudiées : Albany type I (T.T.) et Albany type II (Fleetwood). Alors que l'hémagglutination, également tentée, échoua, par contre les tests de fixation du complément se montrèrent nettement positifs, et ne donnèrent aucune réaction croisée.

La fixation du complément a été utilisée non seulement pour le typage des souches, mais aussi pour le diagnostic de l'infection coxsackie, cliniquement décelable, ou inapparente. On connaît le principe général de la méthode, qui est celui de la réaction de KOLMER pour l'étude des A. C. syphilitiques appliquée aux recherches sérologiques des infections virales. Nous préciserons seulement quelques modalités de réalisation de ce test pour l'étude des virus Coxsackie, selon différents auteurs.

CASALS prépare un antigène extrait à l'acétone-éther et concentré par centrifugation (123). L'antigène préparé à partir des pattes de souriceaux donna des tests spécifiques de fixation du complément, tandis que les antigènes extraits de cerveau infecté se révélèrent inefficaces, à la fois pour le test de F.C. et pour la production d'antisérums (122).

Préparation de l'antigène.

Des souriceaux suisses de 2 à 11 jours sont inoculés par voie intrapéritonéale avec 0,5 ml d'une suspension à 10—¹ de cerveau ou de pattes d'animaux infectés. Dès les signes évidents de maladie, le troisième jour, habituellement, on sacrifie les animaux, puis on les saigne (élimination de l'hémoglobine). Prélèvements séparés du cerveau et des pattes dont on a enlevé la peau. Traitement des pattes à l'acétone-éther pour l'obtention de l'antigène : cette opération s'est révélée plus satisfaisante que la mise en suspension saline suivie d'une centrifugation à 12.000 Tmn. On pèse puis on broie les tissus infectés dans 20 fois leur volume d'acétone pendant 2 mn, au froid de préférence. Centrifugation à 1.500 Tmn pendant 1 minute. Le surnageant est rejeté. Adjonction au sédiment d'une même quantité d'acétone que précédemment. Ce mélange est laissé à température ordinaire dans une bouteille fermée avec un bouchon de liège, et agité fréquemment. Nouvelle centrifugation dans les mêmes conditions ; le surnageant est à nouveau rejeté. Adjonction au sédiment d'un mélange à parties

égales d'acétone et d'éthyl-éther anhydre (20 fois le volume initial des tissus). A nouveau, 20 mn à température ordinaire, avec agitation fréquente. Centrifugation à 1.500 Tmn pendant 1 mn et on rejette le surnageant ; le sédiment est lavé 2 fois avec 20 volumes d'éthyl-éther et laissé chaque fois 20 mn à la température ambiante. Puis, dessiccation du sédiment à la pompe à vide hydraulique, pendant 15 mn à 1 heure. Il reste une poudre fine qu'on remet en suspension dans une solution saline (3 fois le poids initial de tissus) ; on place au réfrigérateur pendant une nuit, ou bien on laisse à température ordinaire 30 mn. Une dernière centrifugation est faite à 10.000 Tmn pendant 1 heure ; et, au culot, on ajoute 1/10.000 de Merthiolate. L'antigène est conservé à 2° C dans un flacon bouché à l'émeri. Comme matériel de contrôle, du cerveau et des pattes sont prélevés chez des souris suisses du même âge apparemment normaux, et traités de la même manière.

L'immunsérum de référence est préparé en injectant par voie intrapéritonéale, à des souris suisses de 3 à 4 mois, 0,5 ml d'une suspension à 10^{-1} de cerveau de souris virulent. On fait deux injections : une le 1^{er}, l'autre le 5^e jour, puis on saigne les animaux le 15^e jour. On inocule ensuite ces animaux par voie intrapéritonéale avec 0,5 ml d'une suspension à 10^{-1} de pattes de souris infectés, les 19^e et 25^e jours. Ils sont saignés à nouveau le 35^e jour. En tout, on traite ainsi 20 souris pour chaque type de virus.

Sérums examinés : prélevés aseptiquement, puis conservés en ampoules scellées au réfrigérateur jusqu'à leur examen, d'abord les sérums sont ordinairement inactivés par chauffage à 56°, pendant 1/2 heure. Cependant, les sérums de souris et les sérums humains seront chauffés à 60° pendant 1/2 heure avec de meilleurs résultats, éliminant ainsi un faible pouvoir anti-complémentaire, ou des substances pouvant donner des réactions non spécifiques (124).

Technique générale de la réaction (124-125).

Elle a été décrite par CASALS, en 1947, pour les virus encéphalitogènes. Titrage soigneux de l'antigène en solution saline (le complément peut être conservé à — 76° C sans perte appréciable d'activité). Dilutions des sérums inactivés à 1/2, 1/4... 0,25 ml de chaque dilution dans des tubes de 100×10 mm. Série de dilutions (4 habituellement) pour chaque antigène. 4 unités d'anti-

gène (ici plutôt entre 8 et 16 unités) (123), 2 unités de complément. Fixation entre 2 et 4° C pendant 18 heures (d'autres préfèrent 37° C pendant une heure). Adjonction du système hémolytique préalablement composé (3 unités de sérum hémolytique). Incubation à 37° C pendant 30 mn. Lecture après ce temps.

Résultats.

La technique ainsi mise en œuvre donnerait, selon les auteurs, des tests spécifiques en présence de sérums homologues de souris, et avec des sérums humains de convalescents.

FINDLAY décrit la technique suivante en ANGLETERRE (1950) (47) :

Antigènes : souriceaux paralysés par une injection intrapéritonéale de virus C. Les carcasses sont broyées (après avoir ôté peau, viscères, cerveau), mises en suspension saline à 5 %. Centrifugation à 3.000 Tmn, pendant 30 mn.

Sérums examinés : préalablement chauffés à 56°, pendant 30 mn ; 0,25 ml d'antigène ; 2 unités de complément. Agiter le mélange. Fixation à froid, à 4° C, pendant 16-18 heures. Adjonction du système hémolytique (hématies lavées à 2,5 % + 5 unités de sérum hémolytique). Agiter les tubes. Bain-marie à 37° C. Lecture après hémolyse totale des témoins.

HOWITT et BENEFIELD (126) utilisaient des suspensions de muscles striés de souriceaux, filtrées sur Seitz, puis congelées et décongelées à plusieurs reprises.

Antigènes : prélèvements des muscles seuls de 20 à 30 souriceaux présentant des signes évidents de paralysie, 2 à 5 jours après une inoculation de 0,03 ml de virus par voie IM. La peau ôtée, ces muscles sont pesés, broyés, mis en suspension à 20 % dans une solution saline-tampon. Ce matériel virulent est laissé à 4° C toute une nuit dans un flacon. Ensuite, on centrifuge à 2.500 Tmn pendant 30 mn. Le liquide surnageant est filtré sur Seitz. Après 5 congélations et décongélations successives dans un mélange glace-alcool absolu, centrifugation à 13.000 Tmn pendant 90 mn, à basse température. Le surnageant est conservé dans de petites fioles à la température de 4° C, sans adjonction de substance protectrice. Habituellement, les auteurs emploient 4 unités d'antigène avec les sérums humains. Cependant, pour le typage de nouvelles souches, étant donné qu'on ne possède pas

d'antisérums homologues, ils utilisent l'antigène non dilué avec les antisérums des types connus.

Les sérums de référence sont préparés à partir de souris de 6 semaines. Des suspensions virulentes à 10 % de cerveau ou de muscles filtrés de souriceaux ont été réalisées et congelées en solution-tampon jusqu'à leur utilisation. Deux fois par semaine, les souris reçoivent une injection intrapéritonéale de 0,2 ml d'une de ces suspensions de virus, ceci pendant 3 semaines. Une semaine après la dernière injection, les animaux sont saignés et leur sérum congelé. Les auteurs utilisent parfois le hamster vacciné avec des tissus de hamster infecté.

Technique générale de la réaction.

Technique de KOLMER modifiée, employant des demi-doses pour réaliser un volume total de 1,5 ml. Titrage du complément avec les antigènes avant chaque test. 3 % d'hématies de mouton lavées et 2 unités de complément. Sérum, antigène et complément, mis au réfrigérateur à 4° C toute une nuit avant l'adjonction du complexe hémolytique. Incubation à 37° C 30 mn au bain-marie, et séjour d'une heure au réfrigérateur. Puis, lecture : 4 + (pas d'hémolyse), 3 +, 2 +, 1 + (hémolyse relative), 0 (hémolyse totale). Témoins sérums, antigènes, système hémolytique et sérums positifs de chaque type. 3 + et 4 + sont significatives dans les dilutions de sérums supérieures à 1/2, douteuses dans cette dilution.

Résultats :

Le typage des souches a donné les mêmes résultats par la F. C. que par le test de neutralisation. 22 sérums humains examinés (avec prélèvement « précoc » et « tardif ») révélèrent 8 augmentations nettes du taux des anticorps vis-à-vis des types 1 et 2. Selon les auteurs, la réaction de F. C. utilisant comme antigènes des muscles filtrés peut être utilisée pour le typage des souches ou pour le diagnostic des anticorps dans les sérums humains.

MANIRE, SULKIN et FARMER (127), dans leurs premiers essais de cette réaction, utilisaient comme antigènes, avec de mauvais résultats, des suspensions brutes de cerveau de souriceaux infectés et un immunsérum de cobaye. Ils décrivirent plus tard une technique utilisable avec succès en préparant des antigènes concentrés par centrifugation.

Antigène : suspension brute à 33 % de muscles infectés (paralysies effectives) ; centrifugation à 2.500 Tmn pendant 2 mn. Sur-

nageant centrifugé encore à 2.500 Tmn pendant 30 mn ; nouvelle centrifugation du surnageant à 5.000 Tmn pendant 30 mn.

Sérum de référence : sérum de cobaye immunisé, chauffé à 56° pendant 30 mn.

Technique générale : 3 dilutions de 1/4 à 1/128 réalisées avec immunsérum, antigène, extraits de tissus normaux (témoin antigène). Chaque dilution de sérum examinée avec chacune des dilutions des virus et du témoin antigène. 0,2 ml d'immunsérum est mélangé à 0,2 ml d'antigène à la dilution appropriée, et 0,2 ml de complément (exactement 2 unités). Incubation au bain-marie à 37° C, pendant 2 heures. Dans chaque tube, adjonction de 0,4 ml d'un mélange à parties égales de 2 % d'hématies de mouton lavées et de sérum hémolytique (2 unités pour 0,2 ml). Lecture après nouvelle incubation de 30 mn. Fixation totale 4 + ; hémolyse totale 0.

Résultats :

La réaction de F. C. selon la technique de MANIRE et al. se révéla spécifique. Des sérums humains furent examinés : sérums de malades chez qui on avait isolé un virus, de malades suspectés d'infection Cocksackie, de sujets présumés sains. Mais nous n'avons pas la relation des délais d'apparition des A. C., ni de leurs taux. Les auteurs concluent à l'utilité de cette méthode pour étudier l'infection Cocksackie chez l'homme.

DODD (128) a préparé des antigènes purifiés satisfaisants avec des souches du groupe A. Les souches B, par contre ont un faible pouvoir antigène et les sérums de référence sont difficilement obtenus. Des suspensions à 33 1/3 % de pattes de souris infectés sont réalisées avec une solution d'urate de potasse à 0,5 % qui précipite les protéines. A deux reprises, congélation et décongélation, puis centrifugation à 18.000 Tmn pendant 30 mn au froid. Le surnageant clair, légèrement rosé, est l'antigène. Il est stable au moins 8 mois au réfrigérateur, et donne des réactions spécifiques avec les sérums homologues.

DELPY et al. (3) décrivent la préparation d'un antigène purifié en utilisant des souris de 48 heures inoculés avec une suspension de virus à 10^{-1} additionnée d'antibiotiques. Ils sacrifient les animaux après 36 à 48 heures, lorsque la moitié présente des signes morbides ; les souris sont ensuite saignées, pelées, éviscérées et broyées à — 25°. Suspension dans une solution-tampon

au véronal, congélations et décongélations successives, puis traitement par protamine, puis éther.

CONTRERAS et MELNICK recommandent d'inoculer les souriceaux dans les 24 premières heures de leur vie, et de préférence avec de fortes doses de matériel infectieux (113). Les animaux sont ensuite sacrifiés 48 heures après, ou plus tôt, lorsque 50 % d'entre eux présentent des signes pathologiques.

OKER-BLOM et NIKKILA (129) ont utilisé la montmorillonite (bentonite) pour éliminer les lipides et l'azote du cerveau et des muscles de souriceaux infectés. Ce virus ainsi concentré serait aussi actif et aussi antigénique que les virus purifiés par le sulfate de protamine, ou par l'acétone-éther.

MELNICK et coll. (130) utilisent comme sources de virus des thorax de souriceaux sacrifiés le 1^{er} jour de la maladie paralysante. Ces thorax comprennent les muscles, os, et certains viscères (après avoir ôté l'estomac, l'intestin et la peau). Préparation d'une suspension à froid dans le sérum physiologique, élimination des grosses particules par une légère centrifugation à 18.000 Tmn à froid, pendant 30 mn. Le surnageant, filtré sur papier filtre pour éliminer les graisses solides, constitue l'antigène brut.

Antigènes bruts traités à la protamine : on ajoute du sulfate de protamine, à raison de 5 mg pour 1 ml d'antigène brut ; on agite pour dissoudre le plus possible ; congélateur pendant 30 mn. Centrifugation à 2.000 Tmn, pendant 10 à 15 mn : le surnageant constitue « l'antigène brut traité à la protamine ». Lorsque le titre des tissus infectés est peu élevé (ID 50 de 10^{-5} à 10^{-6}), il est nécessaire de concentrer et de purifier les antigènes.

Préparation des antigènes concentrés et purifiés : l'antigène brut est soumis à une ultracentrifugation à 39.460 Tmn. Le surnageant pauvre en virus est éliminé ; sédiment repris en suspension dans solution saline de véronal, à raison de 1/20 du volume initial, mélangé avec seringue de 1 ml. Suspension centrifugée à basse température, à 18.000 Tmn. Adjonction au surnageant de 5 mg de sulfate de protamine par ml. Réfrigérateur pendant 30 mn, centrifugation à 2.000 Tmn, pendant 15 mn. Le surnageant constitue l'« antigène concentré purifié ».

Au lieu d'utiliser immédiatement les tissus infectés, il est préférable de les conserver toute une nuit à la température de 4° en

suspension à 20 % dans de l'eau ou dans une solution saline. Avec un sérum homologue, le titre de cet antigène (souche Ohio) est de 1/64, alors qu'après traitement immédiat, il n'est que de 1/16.

Le stockage de tels antigènes purifiés concentrés doit être fait à -20° ; même après 9 mois, ils conservent toute leur activité. Au réfrigérateur, ils sont instables : tout pouvoir antigène aurait disparu au bout d'une semaine. MELNICK et coll. n'emploient que l'antigène purifié concentré.

Pour titrer un tel antigène, ils utilisent un sérum dilué à 50 % de souris hyperimmunisées. On prend pour unité d'antigène la dilution d'antigène fixant 0,1 mm³ de complément. La dose optimale d'antigène, utilisée d'ailleurs pour faire des réactions croisées avec les souches étudiées, est de 8 unités.

Sérum de référence : on inocule à des souris blanches de 2 à 4 semaines, par la voie intrapéritonéale, une suspension de muscles et d'os de souriceaux infectés (parfois du cerveau). La technique proposée est : 6 inoculations de 0,1 ml, 3 fois par semaine, pendant 3 semaines. Les animaux sont saignés par ponction cardiaque 8 à 10 jours plus tard. On peut aussi utiliser des hamsters ou des singes avec une technique voisine. Tous les sérums d'animaux sont conservés congelés.

Technique générale de la réaction.

a) *Méthode des tubes* : test de KOLMER modifié : complément standardisé pour que 0,1 ml contienne largement 2 unités. Système hémolytique : mélange à parties égales d'hématies de mouton à 2 % et de la dilution appropriée de sérum hémolytique renfermant 2 unités pour 0,1 ml. Sensibilisation à température ordinaire, pendant 15 mn. Série de dilutions à progression géométrique de raison 2, avec 0,1 ml seulement de chaque dilution dans un seul tube. Adjonction de 0,1 ml de complément (2 unités), puis de 0,1 ml d'antigène. Les tubes sont placés à 4° C pendant 16 à 18 heures; on ajoute alors 0,2 ml de système hémolytique et on fait faire l'hémolyse dans un bain-marie à 37° pendant 30 mn. Lecture après ce temps : aucune hémolyse 4 +, hémolyse totale 0, stades intermédiaires 3 +, 2 +, 1 +, $\pm$. Pour plus de précisions, la réaction peut être faite en hémolyse 50 % selon la méthode de WADSWORTH.

b) *Méthode sur plaques :*

décrite par FULTON et DUMBELL (131), employée par MELNICK et LEDINKO, puis reprise et modifiée par LÉPINE et coll. (132). Elle utilise des microgouttes distribuées sur des plaques de lucite, et ne requiert que des doses minimales de sérum et d'antigène. Ici, la sensibilisation des hématies se fait à 37° pendant une heure et la fixation est réalisée à chaud (en incubation à 37° pendant 30 mn). La lecture est alors faite en hémolyse 50 %.

RESULTATS OBTENUS PAR LA FIXATION
DU COMPLEMENT

a) *Infection expérimentale.*

CONTRERAS et MELNICK (133), étudiant l'apparition des anticorps F. C. et des anticorps neutralisants chez la souris infectée expérimentalement, constatent, en ce qui concerne les premiers, que leur évolution est comparable à celle qui se produit chez d'autres animaux et avec d'autres virus. Ces anticorps apparaissent « dès après l'inoculation » et atteignent leur titre maximum deux à trois semaines après la dernière injection, puis retombent à leur titre initial en 3 mois. Ils seraient encore décelables après 7 mois. Certains adjuvants (Alarcel A et Bayol F) permettent une plus longue persistance des anticorps. Cependant, si on inoculait des souris adultes avec des suspensions de souriceaux infectés, il se développerait un anticorps fixant le complément en présence de suspension de muscles et d'os de souriceau neuf. La protamine permet, par précipitation, d'éliminer cet antigène des tissus normaux ; de même, un chauffage à 60° pendant 20 mn le détruit, alors qu'il peut supporter la température de 56° pendant 30 mn. Une importante objection à l'utilisation, dans certains cas, du test de F. C. résiderait dans son défaut de spécificité de type ; ceci apparaîtrait surtout dans l'infection expérimentale. L'infection avec un virus Cocksackie par voie orale, intra-dermique ou intramusculaire, ferait apparaître, selon KRAFT et MELNICK (134), chez le chimpanzé comme chez l'homme, des anticorps fixant le complément, non seulement pour la souche de virus homologue, mais aussi pour différentes souches hétérologues. Si, au contraire, on réalise les infections avec des virus poliomyélitiques, West-Nile, ou d'autres virus étrangers à ceux qu'on rassemble dans le « groupe Cocksackie », on ne modifie pas le titre des anticorps pour ces

derniers. Cependant, CONTRERAS et MELNICK (133) n'ont pas constaté ce phénomène de rappel d'anticorps hétérotypiques chez la souris. FINDLAY administra à un volontaire une suspension de virus Cocksackie A2 par voie intra-nasale : celui-ci présenta des symptômes de maladie de Bornholm après 46 heures. Chez lui, la F. C., qui était négative auparavant à plusieurs reprises, l'était encore 24 heures après le début de la maladie ; mais, après 72 heures, elle décelait des anticorps dans le sérum. Ceux-ci persistèrent 9 semaines (47).

b) *Infection spontanée.*

Les contaminations de laboratoire fournissent, ici encore, des exemples d'infection spontanée chez l'homme, et permettent une étude des anticorps F. C. dans la Cocksackie-maladie, comme dans l'infection inapparente.

KRAFT et MELNICK (130) observent que, dans un cas de contamination accidentelle par la souche Ohio, les anticorps F. C. atteignent leur taux maximum 3 mois environ après l'infection, alors que ce taux était faible à la 2^e ou à la 4^e semaine. Leurs courbes ne seraient pas identiques pour chaque type de virus Cocksackie. Dans certains cas, ces anticorps F. C. apparaissent avant les anticorps neutralisants : c'est ce qui se produit pour le type I de DALLDORF où l'on peut, dès la phase aiguë de l'infection, avoir un test de F. C. positif. FINDLAY (47) relate des contaminations de laboratoire, spécialement chez une personne qui avait travaillé 3 mois sur les virus C. Les symptômes cliniques étaient très évocateurs de la maladie de Bornholm : fièvre modérée de très courte durée (1 jour avec max. 37°8), douleur au niveau des dernières côtes irradiée dans le dos, accentuée à la respiration et la nuit. F. C. positive avec le type 2 Cocksackie, que le malade avait particulièrement manipulé. Lors d'épidémie de maladie de Bornholm en Angleterre, FINDLAY (47) décela des A. C. fixant le complément en présence des types Cocksackie 1 et 2, mais jamais du type 3. Ces anticorps étaient apparus *vers le troisième jour* de la maladie et montraient souvent une augmentation de leur taux sérique. Tous les sujets examinés provenant de l'épidémie étudiée avaient des anticorps F. C. à des taux de 1/5 à 1/80. Les sujets suspects d'atteinte isolée avaient également des anticorps (1/5 à 1/20). Par contre, 6 sérums de poliomyélite non paralytique et de méningites à liquide clair et 26 sujets sains avaient des tests négatifs. RONSE et FINDLAY (49) ont utilisé la F. C. pour faire le diagnostic de

maladie de Bornholm lors d'une épidémie en 1950, en Belgique. Sur 24 sérums de malades ayant présenté des symptômes cliniques de l'affection, 13 fixaient le complément à des taux de 1/10 à 1/20 en présence du type A2.

KRAFT et MELNICK (135) étudient les sérums de 74 malades lors d'une épidémie de poliomyélite. Les sujets étaient atteints de paralysies, ou simplement d'affections fébriles diverses non paralysantes : « gripes d'été », pharyngites, rhinites, pneumonies atypiques, etc... Les réactions de F. C. faites vis-à-vis de 9 souches différentes ont montré, dans les 4 mois suivant la maladie aiguë, relativement peu d'augmentations des taux d'anticorps ; dans la plupart des cas, les taux restaient inchangés, et un bon nombre présentait une décroissance importante. Les auteurs ne trouvent aucune relation entre la Cocksackie prouvée par la F. C. ou par l'isolement du virus, et la nature paralytique ou non, de l'affection. CHRISTEN, en Suisse, sur 27 cas de poliomyélite, aurait eu 8 résultats positifs, dont 4 chez des malades non paralytiques (136). Pendant l'épidémie saisonnière de poliomyélite de l'été 1951, en Suisse, WIRTH constata que, sur 226 malades présentant une inflammation aiguë du névraxe, 27 % au moins avaient élaboré des anticorps F. C. vis-à-vis de la souche A6 à des taux significatifs (1/20, ou ayant passé de 0 à 1/10 au cours de la maladie) ; alors que, sur 53 sujets témoins, 5 à 10 % seulement étaient sérologiquement positifs (137).

En Finlande, au cours d'une épidémie de poliomyélite en 1950, 35 % des poliomyélitiques avaient des anticorps pour le type A10 Cocksackie ; de même 35 % des cas de méningite à liquide clair et 28 % des malades présentant divers signes neurologiques (OKER-BLOM et POHJANPELTO) (96).

SOHIER et coll. rapportent 242 cas de « méningites à liquide clair » ou méningo-encéphalites observées en France et font une étude intéressante sur l'étiologie virale de ce syndrome. D'après leurs travaux, le virus des oreillons serait en cause au moins dans 10,7 % des cas, et celui de la chorioméningite lymphocytaire dans 3,3 %. Quant au virus de Cocksackie, son rôle a été mis en évidence par les auteurs deux fois, mais étant donné l'absence de recherche systématique comme pour les deux autres agents, on ne peut avoir aucune indication précise sur la fréquence des méningites ou méningo-encéphalites dues à ce virus (4).

En 1949, en Finlande, 25 % des adultes sains avaient des anticorps F. C. dans leur sérum, alors qu'aucun des enfants de 2 à 11 mois n'en possédaient. Pour préciser certaines relations possibles entre l'incidence de maladies mineures estivales (surtout des épisodes fébriles inexpliqués, et pharyngites d'été) survenant principalement chez les enfants, WALTON et MELNICK (19), dans une vaste enquête sérologique effectuée dans la ville de Charleston en 1951, constatèrent que 31 % des enfants de moins de 10 ans qui avaient élaboré des anticorps pour un ou plusieurs types de Cocksackie avaient été malades pendant la période d'observation. Plus récemment, DELPY (2), au laboratoire du Pr. LÉPINE, procédant à une recherche systématique des anticorps F. C. chez des adultes présumés sains, observe que plus de 50 % des sérums en possédaient, avec une prépondérance des anticorps pour la souche T1 par rapport aux souches T2 et T3. SOHIER et coll. (138) trouvèrent des résultats comparables dans une autre prospection réalisée en France. Les auteurs, ne tenant compte que des réactions positives à une dilution de sérum $\geq 1/4$, constatent que sur 154 examens sérologiques pratiqués : 42,2 % de sérums étaient positifs, dont 49,18 % pour T1, 10,37 % pour T2, 4,7 % pour T3.

Nous verrons, dans quelques considérations épidémiologiques, la distribution des virus Cocksackie dans la nature. Notons, dès lors, que des examens sérologiques effectués sur des singes neufs (*M. rhesus*, *M. cynomolgus*) ont permis de déceler des anticorps F. C., non seulement pour la souche Léon, mais pour 11 types de virus C (KRAFT) (139).

La réaction de F. C. a donc été utilisée par de nombreux auteurs de divers pays dans le but de typer les souches Cocksackie, mais aussi pour diagnostiquer une infection aiguë de la maladie ou pour procéder à de vastes enquêtes sérologiques de l'infection C.

ETUDE CRITIQUE DES METHODES DE DIAGNOSTIC

Quelle méthode utiliser pour diagnostiquer une infection Cocksackie chez l'homme ? En réalité, aucun des tests de laboratoire, même le plus précis, ne peut satisfaire à lui seul. Depuis la découverte des virus C, la question de leurs relations avec la pathologie humaine n'est pas absolument éclairée. Cependant, un certain nombre de symptômes sont suffisamment caractéristiques de l'infection pour orienter les recherches, et l'on admet aisément que

le clinicien doit jouer un rôle important dans ce domaine. En effet, pour être en mesure de rapporter les virus C à une affection humaine, KILBOURNE exige 4 conditions (45) :

1) Un examen clinique minutieux, le syndrome clinique étant mal défini ou d'étiologie imprécise.

2) La démonstration d'une réaction anticorps à un virus du groupe Coxsackie, coïncidant avec la maladie.

3) L'élimination du diagnostic de poliomyélite grâce aux critères cliniques et virologiques.

4) Si possible, l'isolement du virus chez le malade.

Si ces conditions ne peuvent toutes être remplies avec certitude, on voit que la clinique prend une grande part au dépistage de l'infection ; la connaissance de ses principales manifestations polymorphes, de son épidémiologie, est inséparable des méthodes de laboratoire. Mais on ne doit pas perdre de vue : qu'il est possible de détecter simultanément des anticorps coxsackie et poliomyélitiques, l'infection pouvant être double; que des sujets peuvent porter le virus sans réagir d'aucune sorte (porteurs sains), ou en présentant une infection inapparente.

DALLDORF (70) préconise l'isolement du virus pour faire le diagnostic de l'infection, puis l'identification de ce virus par les tests sérologiques (neutralisation, protection croisée, fixation du complément). Pour lui, « les études des sérums humains sont souvent moins précises par ces moyens » et les nombreux types antigéniques ne sont pas en faveur des tests sérologiques pour le diagnostic clinique. En réalité, l'isolement d'un virus coxsackie n'est pas un critère absolu, car on connaît le portage du virus. BEEMAN et HUEBNER (140) démontrent que, pour le diagnostic sérologique de l'herpangina (virus du groupe A), seule l'épreuve de neutralisation est vraiment spécifique de type par rapport à la réaction de F. C. qui décèle très souvent des augmentations de taux d'anticorps hétérotypiques. D'autre part, les résultats des enquêtes effectuées par cette dernière méthode ne correspondraient pas à ceux des recherches directes du virus en clinique, ou au titrage des anticorps neutralisants. Les auteurs rapportent 40 exemples d'anticorps F. C. hétérotypiques, contre un exemple identique d'anticorps neutralisants. Dans une population donnée, l'infection par le type 1 serait très répandue, si l'on en croit la

fréquence des réactions de F. C. positives (CASALS et OLITSKY) (141). Cependant, BEEMAN et al. ne l'ont jamais isolé d'un seul cas d'herpangina et les anticorps neutralisants T1 seraient trouvés dans une communauté en pourcentage très faible. Il semble à ces auteurs que les taux d'A. C. neutralisants représenteraient un indice plus exact d'infection ou d'absence d'infection par les divers types du groupe A. Pourtant, si l'on conçoit que des rappels d'anticorps hétérotypiques F. C. peuvent se faire lors d'une réinfection Cocksackie, il est difficile d'admettre que les taux de ces anticorps soient prépondérants par rapport à ceux correspondant au virus causal. Il est possible également que le type 1 ne détermine pas seulement l'herpangina, mais une autre affection ; on sait l'hétérogénéité de ce qu'on appelle le « groupe des virus Cocksackie ». Peut-être ce type 1 est-il faiblement antigénique, donc son contact peu immunisant ? On connaît ses différences de comportement en expérience par rapport aux autres types. Son inoculation au souriceau en vue de l'isolement est suivie d'une incubation plus longue de la maladie expérimentale ; les titres du virus seront assez faibles. D'ailleurs, les auteurs concluent : « Bien que le type T1 ait été isolé maintes fois chez l'homme, des études plus approfondies sont nécessaires pour définir le rôle de ce virus en pathologie humaine ». Si l'immunité, selon BEEMAN, est liée plutôt à la présence d'A. C. neutralisants que d'anticorps F. C., la valeur du test de F. C. n'est pas contestée pour le diagnostic d'une infection récente ni pour le typage des souches, avec des antigènes et des sérums murins.

MANIRE et al. (127) partagent une opinion toute différente sur la valeur du test de neutralisation : c'est une méthode longue et onéreuse. De plus, on décèlerait avec une très grande fréquence des anticorps neutralisants chez les sujets présumés sains, si bien que le test de neutralisation « peut se révéler d'intérêt limité dans le diagnostic des infections Cocksackie ».

La découverte de nouveaux animaux de laboratoire réceptifs à la Cocksackie fait faire un nouveau pas aux méthodes biologiques, l'emploi des souriceaux s'étant révélé très onéreux. Ainsi, la contamination de la mère se fait inmanquablement par ses petits infectés, compromettant dans un laboratoire des élevages entiers de souris (KUNZ, RICHARDSON et PAPPENHEIMER (142). Cependant, des difficultés subsistent dans l'utilisation des méthodes non spécifiques de diagnostic. On connaît la plasticité des propriétés biologiques des virus Cocksackie, et la question du tropisme de ces

virus chez l'animal. Pour WALTON et MELNICK (19), le test de F. C. n'est pas seulement utile au diagnostic clinique de l'infection Cocksackie, mais il est « un moyen précieux qui peut être utilisé pour apprécier de façon précise l'infection par les virus C dans des groupes de populations », ce qui étend singulièrement son intérêt. Tout en reconnaissant que ce test peu coûteux, facilement réalisable pour étudier de vastes groupes humains, présente un certain défaut de spécificité de type, on peut admettre, avec WALTON et MELNICK, que cette réaction est valable pour donner une idée générale de l'épidémiologie de ces virus, surtout si l'on met en œuvre rationnellement, pour compléter les preuves, les méthodes directes d'isolement et d'identification des virus, ainsi que d'autres tests indirects plus délicats, comme l'appréciation des anticorps neutralisants. Pourtant, on ne saurait contester la valeur diagnostique d'une augmentation suffisante (triple ou quadruple du taux initial) du taux des anticorps F. C. coïncidant avec l'affection aiguë de caractère suspect. De même, dans un cas isolé, la mise en évidence d'anticorps F. C. pour un type donné à un taux important n'a-t-elle pas une signification, bien que des anticorps pour d'autres types existent à des taux plus faibles ? On ne peut certes pas répondre dans un tel cas d'une infection récente, mais n'est-ce pas la preuve qu'une infection Cocksackie fut contractée à une période quelconque de la vie ?

En définitive, s'il fallait choisir entre ces méthodes pour faire un diagnostic, nous pencherions pour la réaction de F. C. effectuée sur un sérum « précoc » et un sérum « tardif », car ce procédé est assez facile au point de vue prélèvement et examen pour être couramment utilisé. Evidemment, dans la mesure du possible, il serait souhaitable de faire appel aux autres techniques plus délicates.

EPIDEMIOLOGIE

DONNÉES GÉNÉRALES.

On tend de plus en plus à considérer l'épidémiologie comme « une discipline biologique étudiant les relations et interactions entre les êtres vivants et le milieu qui les environne, qu'il soit animé ou inanimé » (SOHIER) (143). Si tous les facteurs concourant au développement d'une épidémie ne sont pas encore pleinement élucidés, certaines conditions présidant à l'éclosion d'une maladie infectieuse sont riches d'enseignement. Il est apparu récemment que les progrès de la vie moderne en matière d'hygiène, dont personne ne peut contester l'utilité et la valeur, ont, à première vue, une contre-partie fâcheuse sur l'incidence des infections virales, et surtout sur la morbidité qu'elles déterminent. Cette notion importante a été introduite en Médecine grâce aux recherches épidémiologiques sur la poliomyélite, qui font ressortir aujourd'hui toute la portée des travaux de Charles NICOLLE sur les infections inapparentes. Ce sont elles qui réalisent ce qu'on appelait jadis « l'immunité spontanée occulte ». On sait aujourd'hui que la plupart des individus de nos pays possèdent dans leur sérum des anticorps spécifiques, traduction de leur immunité vis-à-vis de tel ou tel virus. On comprend comment l'hygiène peut entraver la réalisation de cette « vaccination naturelle ». Les sujets ayant un niveau de vie élevé font donc assez tardivement des infections inapparentes leur conférant cette immunité naturelle, et, dans les fractions de la population mal protégées, la morbidité est plus fréquente, les manifestations graves, la mortalité élevée. Par contre, dans les régions où les conditions de vie sont plutôt précaires, les individus sont en contact avec les virus beaucoup plus précocement que les habitants de certaines villes modernes ; dans ces conditions, c'est sans aucun doute l'enfant en bas âge qui paye le plus lourd tribut au contact précoce avec les agents infectieux. On voit bien là quel est l'intérêt des enquêtes épidémiologiques en fonction de l'âge dans les divers groupes de

population, pour la compréhension de certains aspects des infections virales et de leur prophylaxie. Les infections dues aux virus de Coxsackie ont été l'objet de recherches semblables. Bien que ce groupe de virus soit assez artificiel, leurs membres ont de nombreux caractères communs. Leurs déterminations n'ont certes pas la gravité habituellement dévolue aux virus poliomyélitiques, mais elles sont pourtant intéressantes à connaître, car, souvent trompeuses et polymorphes, et leur fréquence n'est encore que soupçonnée dans certains syndromes actuellement mal définis en clinique.

LES ÉPIDÉMIES DE COXSACKIE.

Les infections coxsackie se développent le plus souvent selon le mode épidémique, atteignant surtout les enfants (73 % avaient moins de 10 ans dans une épidémie étudiée par DALLDORF (72), les nourrissons (144), plus rarement les adultes. L'épidémiologie de la coxsackie est assez parallèle à celle de la poliomyélite, les deux sortes de viroses auraient peut-être même des interactions. On leur a reconnu une semblable incidence saisonnière, avec une prédominance des cas pendant les derniers mois de l'été et en automne. KELLY (145), recherchant systématiquement la présence du virus C dans les eaux d'égouts, a montré un maximum de contamination aux mois d'août et de septembre, jusqu'au milieu de novembre, et surtout par des virus du groupe A, alors que les mois d'hiver étaient exempts d'infection. Récemment, MELNICK et al. (146), dans des recherches portant sur 4 années dans 6 Etats des U.S.A., ont isolé des virus C dans les eaux d'égouts et sur des mouches. L'automne était la saison où les eaux d'égouts étaient le plus contaminées, alors qu'elles ne l'étaient pas du tout en hiver et au printemps. Les résultats varient d'une année à l'autre, et les types de virus rencontrés ou même les associations de virus C, varient également. Les auteurs ont aussi isolé davantage de souches du groupe A que du groupe B.

L'incidence de l'infection C suivant le sexe n'est pas nettement déterminée, et les recherches sur ce point sont rares. Selon CURNEN (147), les deux sexes seraient à peu près également atteints.

Les infections C seraient, d'après les diverses communications, en extension dans le monde entier. Au dix-neuvième siècle, les Etats-Unis et le Canada semblaient surtout intéressés, ainsi que les Côtes de la Baltique. Bientôt, en Europe, la Hollande, la Belgique, l'Allemagne, l'Angleterre, puis le Nord de la France

ont été atteints par des épidémies qui s'étendent maintenant vers le Sud. En d'autres pays, comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande, on a récemment signalé les virus C ; de même en Pologne (144), à Cuba (148). Pour LÉPINE, la maladie de Bornholm serait une « maladie d'avenir » (149).

LES VIRUS COXSACKIE DANS LA NATURE.

Pour de nombreuses maladies infectieuses, le portage du virus par des sujets sains représente un mode important de dissémination. Telle n'est pas l'opinion de DALLDORF : dans la coxsackie, les porteurs chroniques seraient rarissimes (17).

Les infections inapparentes à Coxsackie avec élimination du virus dans les selles seraient peut-être à l'origine de certaines contaminations, surtout chez les enfants. Ce mode particulier de maladie humaine peut survenir de façon isolée ; c'est alors la sérologie qui sera susceptible d'en fournir la preuve « a posteriori » en quelque sorte, révélant une augmentation du taux d'anticorps spécifiques dans le sérum, ou l'apparition soudaine de ces anticorps à des taux significatifs. De fait, une double réaction anticorps spécifique pour la coxsackie et la poliomyélite peut se produire simultanément chez le même malade (MELNICK et KAPLAN (150). Parfois, en effet, l'infection Coxsackie survient en même temps qu'une autre maladie infectieuse. C'est à propos de la pathogénie de la poliomyélite qu'on a le plus discuté ces infections mixtes. Dans la paralysie infantile, malgré la réserve première de DALLDORF à ce sujet (108), on ne pouvait s'empêcher de penser que les virus C étaient susceptibles de jouer un rôle dans la maladie, soit par leurs déterminations musculaires, soit par des lésions nerveuses. Comme nous le savons, les virus C et poliomyélitiques se ressemblent en de nombreux points ; mais, comme l'affirme DALLDORF au Congrès de Lausanne (1953), « aucune preuve n'a été apportée de leur identité, et le virus de la coxsackie n'est jamais à l'origine de cas paralytiques » (17). Bien plus, on a cru mettre en évidence au laboratoire, une interférence entre les deux sortes de virus, certains virus Coxsackie protégeant contre la poliomyélite. Ce serait une hypothèse fructueuse si elle se révélait exacte en clinique ! En réalité, la question est beaucoup plus complexe.

En Pensylvanie, au cours d'une épidémie de poliomyélite où les cas de paralysies étaient fort nombreux, MELNICK et al. (93) constatèrent que 75 % des malades éliminaient le virus poliomyéлити-

que, et 64 %, des virus Cocksackie du groupe A. Les auteurs mirent en évidence les deux virus simultanément dans plus de 50 % des cas. Le virus C ne favorisait-il pas les paralysies ? Au contraire, ce qui illustrait les expériences faites chez la souris, les mêmes auteurs remarquaient le faible pourcentage de paralysies au cours de certaines épidémies antérieures auxquelles s'associaient une infection concomitante par un virus Cocksackie du groupe B. DALL-DORF, récemment encore, attire l'attention sur le fait « qu'on n'a jamais constaté la coexistence d'une épidémie de coxsackie due au virus type B et d'une épidémie de poliomyélite à formes graves », et pose encore la question de l'interférence des 2 viroses en clinique humaine (17).

Les infections C ont été biologiquement démontrées maintes fois associées à des symptômes morbides mal caractérisés, à tel point qu'il est souvent difficile d'établir un lien étroit entre les deux sortes de constatations. Le même problème se retrouve d'ailleurs pour l'herpès, qui semble également très répandu dans les collectivités humaines. Nous avons envisagé ailleurs cette question du diagnostic.

Rappelons seulement, au sujet de la répartition des virus Cocksackie dans la nature, les enquêtes épidémiologiques remarquables de PAUL et RIORDAN chez les Esquimos, de STANLEY en Australie, de WALTON et MELNICK aux Etats-Unis, que nous avons examinées dans les « Méthodes d'étude ». Elles illustrent les considérations épidémiologiques générales que nous avons faites au début de ce chapitre, et montrent le parallélisme de l'épidémiologie des infections Cocksackie avec la poliomyélite.

MODES DE CONTAMINATION.

La découverte du virus C chez les mouches a fait un instant suspecter l'existence d'un vecteur de virus. Pourtant, des mouches contaminées auraient été capturées en des régions indemnes d'infection clinique de coxsackie. SCHWAB et al. (151) ne purent démontrer aucun rôle de vecteur pour les souriceaux d'un acarien, le *tropical rat mite* (*Liponyssus bacoti*), infecté expérimentalement.

La contagion interhumaine est donc très vraisemblable, le malade éliminant abondamment le virus, surtout pendant la phase aiguë de l'infection. On a vu que les eaux d'égouts étaient contaminées à certaines périodes de l'année ; c'est d'ailleurs ce qui a été décrit comme un indice d'infection des grandes villes.

La porte d'entrée du virus semble être la voie oro-pharyngée, ou digestive, et la maladie qu'il détermine a les mêmes caractères que les autres maladies fécales. La contamination par l'eau de boisson, ou les produits laitiers, expliquerait certaines épidémies importantes. Ces épidémies séviraient plus volontiers chez les enfants, avant que ceux-ci n'aient acquis une immunité suffisante.

Les localisations du virus dans l'organisme seraient déterminées en grande partie par une prédisposition lésionnelle : processus rhumatismal ou autre (DESSE).

PROPHYLAXIE.

Est-il nécessaire d'envisager une prophylaxie des infections Coxsackie ? Leur bénignité ne semblerait pas le justifier. Pourtant, si l'on envisage une protection sérieuse, c'est surtout contre la poliomyélite qui se propage suivant les mêmes modalités. Une prophylaxie efficace de ces viroses est conditionnée avant tout par l'isolement rigoureux des malades et des foyers épidémiques. Le contact direct est possible, une hygiène corporelle rigoureuse nécessaire, surtout le lavage des mains avant les repas et un régime excluant les légumes crus, le lait frais et les eaux de boisson de captage autres que les eaux minérales.

ENQUÊTES ÉPIDÉMIOLOGIQUES.

En vue de déterminer l'incidence des infections à virus Coxsackie dans des populations d'adultes, d'une part, et chez les enfants en fonction de l'âge, d'autre part, nous rapportons les résultats de trois enquêtes sérologiques effectuées au Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine de Lyon (Pr. SOHIER). L'étude porte sur la recherche des taux d'anticorps sériques fixant le complément en présence des trois types de virus T₁, T₂, T₃, les plus communément rencontrées en France.

Matériel et méthodes.

Trois populations différentes ont été considérées :

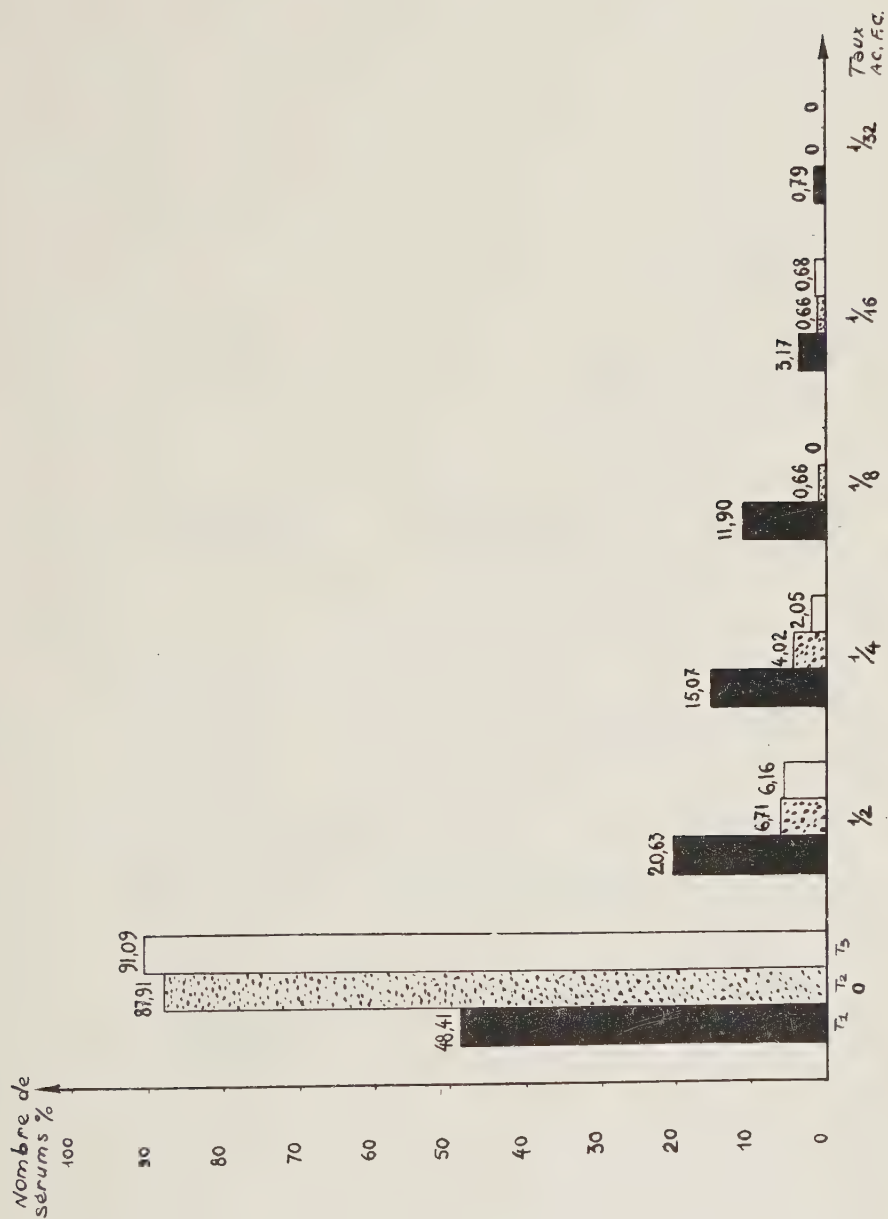
1°) 153 malades, hospitalisés pour la plupart au Service des Contagieux de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes (Pr. SOHIER). Ces malades sont atteints d'affections étrangères « a priori » à la poliomyélite, ou à une forme typique d'infection C. Leurs sérums sont les « tout-venants hospitalisés ».

Enquête sérologique chez des Etudiants en Médecine.

Taux	Souche T ₁		Souche T ₂		Souche T ₃	
	Nb d'exam.	%	Nb. d'exam.	%	Nb. d'exam.	%
0	14	17,94	55	72,36	59	83,09
$\frac{1}{2}$	21	26,92	10	13,15	7	9,85
$\frac{1}{4}$	13	16,66	8	10,52	5	7,04
$\frac{1}{8}$	17	21,79	2	2,63	0	0
$\frac{1}{16}$	11	14,10	1	1,31	0	0
$\frac{1}{32}$	2	2,56	0	0	0	0
	Total: 78		Total: 76		Total: 71	
$\geq \frac{1}{2}$	64	82,05	21	27,63	12	16,90
$\geq \frac{1}{4}$	43	55,12	11	14,47	5	7,04
$\geq \frac{1}{8}$	30	38,46	3	3,94	0	0

Enquête sérologique chez des
sujets hospitalisés. (jeunes adultes).

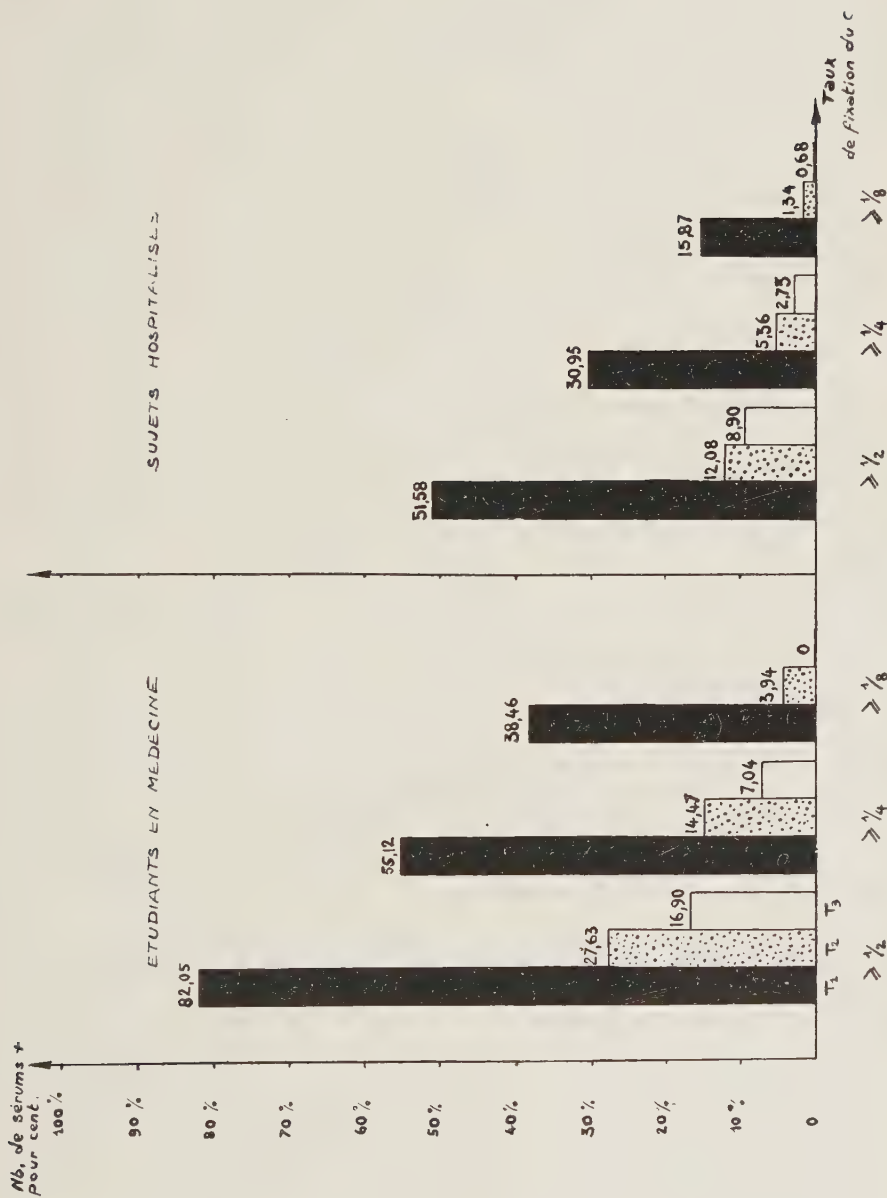
Taux	Souche T ₁		Souche T ₂		Souche T ₃	
	Nb. d'exam.	%	Nb. d'exam.	%	Nb. d'exam.	%
0	61	48,41	131	87,91	133	91,09
$\frac{1}{2}$	26	20,63	10	6,71	9	6,16
$\frac{1}{4}$	19	15,07	6	4,02	3	2,05
$\frac{1}{8}$	15	11,90	1	0,66	0	0
$\frac{1}{16}$	4	3,17	1	0,66	1	0,68
$\frac{1}{32}$	1	0,79	0	0	0	0
	Total: 126		Total: 149		Total: 146	
$\geq \frac{1}{2}$	65	51,58	18	12,08	13	8,90
$\geq \frac{1}{4}$	39	30,95	8	5,36	4	2,73
$\geq \frac{1}{8}$	20	15,87	2	1,34	1	0,68



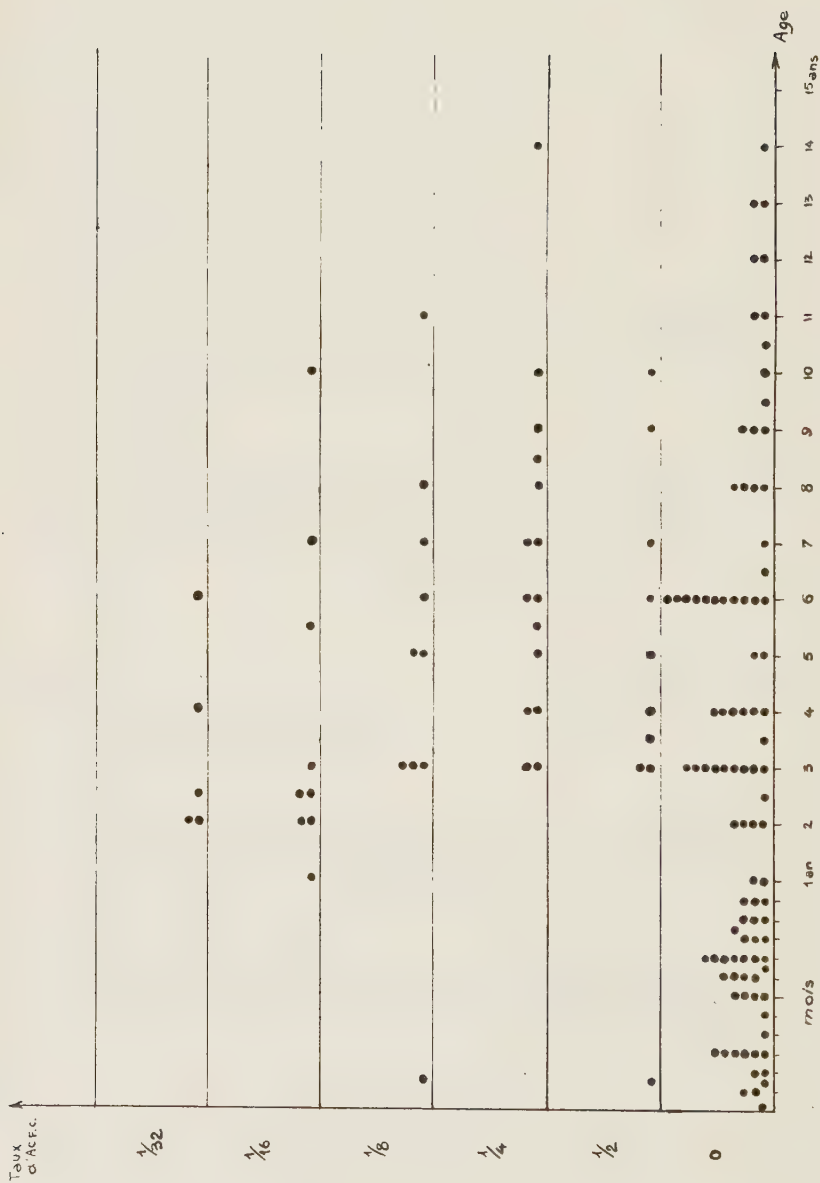
I- Répartition des sérums en fonction de leurs taux d'anticorps F.C.
 vis-à-vis des 3 souches COXSACKIE T_1, T_2, T_3 (SÉRUMS "TOUT VENANTS" SUJETS HOSPITALISÉS)



II - Répartition des sérums en fonction de leurs taux d'anticorps F.C. vis-à-vis des 3 souches CONSACKIE T₁, T₂, T₃ (SÉRUMS D'ÉTUDIANTS EN MÉDECINE)

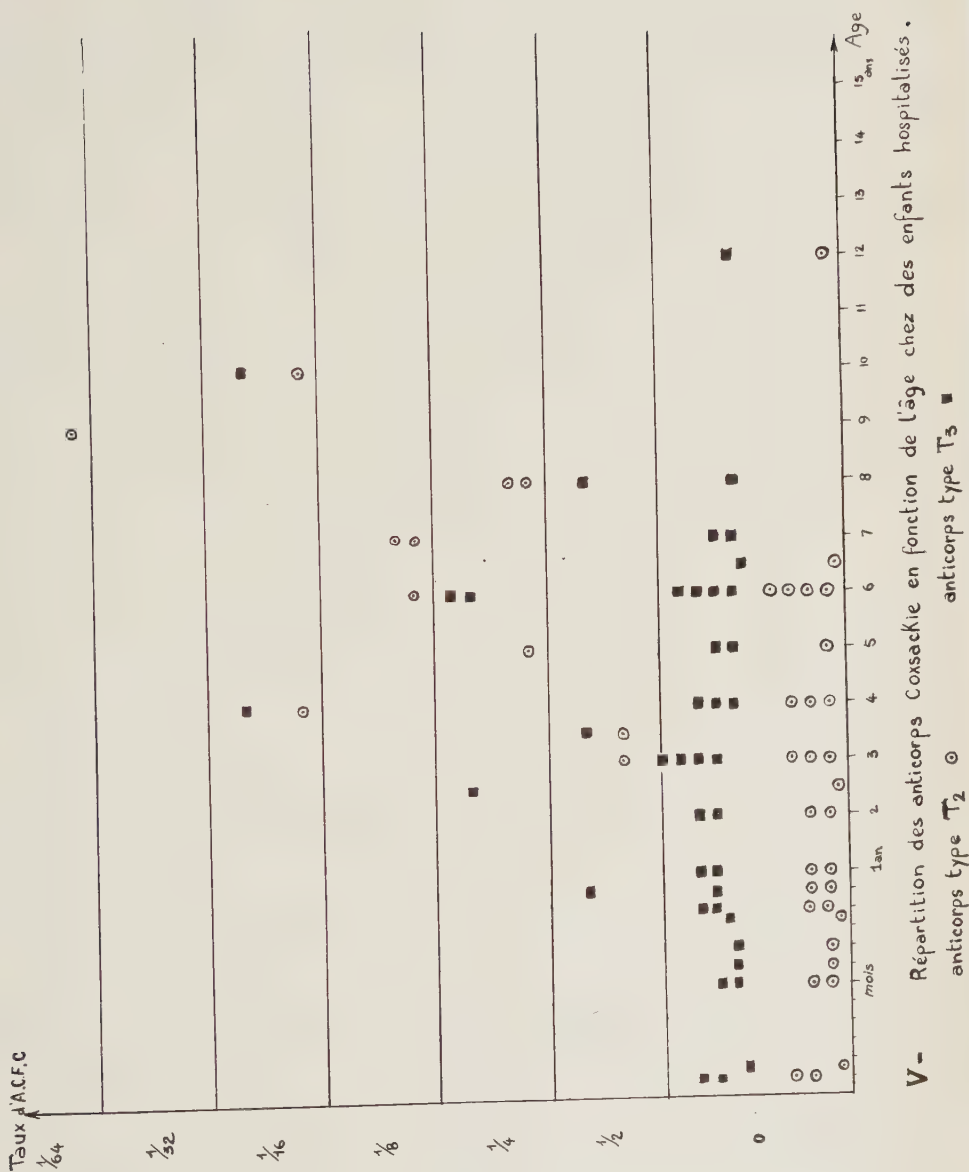


III - Proportions de sérums "positifs" vis-à-vis des trois souches Coxsackie T₁, T₂, T₃.



IV - Répartition des anticorps coxsackie en fonction de l'âge chez des enfants hospitalisés.

anticorps type T₁ •



V- Répartition des anticoirs Consackie en fonction de l'âge chez des enfants hospitalisés.

Les diagrammes I et II résument la répartition des sérums d'adultes en fonction de leurs taux d'anticorps fixant le complément (F.C.). Ils sont semblables pour les deux populations : dans les deux cas, le pourcentage des sérums diminue régulièrement jusqu'au taux d'anticorps F. C. décelé à la dilution $1/32$.

Les anticorps anti-T1 sont les plus fréquemment rencontrés, alors que les anticorps anti-T3 sont très rares. On ne décèle plus d'anticorps F. C. après les dilutions de :

$1/32$ pour T1
 $1/16$ pour T2 et T3.

Malgré leur similitude, les deux diagrammes I et II révèlent que les taux d'anticorps F. C. les plus élevés sont décelés dans les sérums des étudiants en Médecine. Ceci pourrait peut-être s'expliquer par les infections inapparentes contractées en milieu hospitalier. Le diagramme III met bien ce fait en évidence. Si l'on ne retient comme « positifs » que les sérums fixant le complément en présence de la souche T1 à des dilutions respectives : $\geq 1/2$, $\geq 1/4$, $\geq 1/8$, on obtient dans chaque cas les résultats suivants :

— Hospitalisés :

51,58 %	des sérums « positifs »	à $\geq 1/2$
30,95 %	»	à $\geq 1/4$
15,87 %	»	à $\geq 1/8$

— Etudiants en Médecine :

82,05 %	des sérums « positifs »	à $\geq 1/2$
55,12 %	»	à $\geq 1/4$
38,46 %	»	à $\geq 1/8$

— Enfants :

L'étude des sérums d'enfants de 0 à 15 ans en fonction de l'âge est résumée dans les diagrammes IV et V.

Le diagramme IV schématise les taux d'anticorps F. C. en présence du type Cocksackie T1. Le diagramme V, les taux d'anticorps F. C. en présence de T2 et T3.

En règle générale, on constate que les enfants au-dessous d'un an ne possèdent pas d'anticorps F. C. en présence d'aucune souche Cocksackie. Par contre, à partir d'un an et jusqu'à sept ans, les taux d'anticorps dessinent une courbe ascendante jusqu'à la dilution de $1/32$. Entre six et quinze ans, les taux d'anticorps

F. C. sont un peu moins forts ; ils se comporteraient ensuite comme chez l'adulte.

On considère que le taux de 1/32 est une limite inférieure pour le diagnostic d'une infection récente, en testant plusieurs sérums successifs.

Sur le diagramme IV, on voit que 5 enfants ont des anticorps sériques F. C. à 1/32 pour T1 ; un enfant atteint même, dans son sérum, le taux de 1/64 pour T2 (diagramme V).

D'après les quelques renseignements cliniques en notre possession, les 5 premiers auraient été hospitalisés dans les conditions suivantes :

1) A..., *Gérard* (2 ans). Hospitalisé dans le service du Pr. JEUNE.

Rhinopharyngites fréquentes. Lors d'hyperthermie : syncopes, sans crises convulsives, mais révulsion des globes oculaires.

Depuis fin janvier 1955 : mauvais état général ; rhinopharyngite traînante, conjonctivite, anorexie, prise de poids insuffisante. Toux grasse, amygdalite. Eruption fugace de la région dorsale. Température à 37°5 ; poids : 12.270 kg.

G. R. : 6.000.000 ; G. B. : 13.800 (Poly : 53 %, PN 51, E : 2 ; Mono : 47 %, L : 2, MM : 5, M : 30).

Sérologie le 21-2-55 : Agglutinines à froid : 0, Streptocoque MG : 0, Ornithose : 0, grippe A et B : 0, Fièvre Q : 0, Coxsackie (F. C.) 1/32 T1.

II) B..., *Claudine* (2 ans), hospitalisée dans le Service du Pr. BERNHEIM le 12-3-55, pour un syndrome méningé ayant débuté par de l'asthénie pendant 2 ou 3 jours, et un vomissement en jet, sans autres troubles. L'examen ne révèle qu'une très discrète raideur de la nuque et une gorge un peu rouge.

P.L. : Liquide clair ; 64 éléments blancs/mm³ (Poly : 65 %, Lympho : 25 %, Mono : 10 %). Cultures stériles. Protéines : 0,45 g, Glucose : 0,54 g.

L'évolution fut bénigne, et une semaine plus tard la P. L. révélait : 4 éléments/mm³ (Lympho : 98 %, Mono : 2 %) ; cultures stériles ; protéines : 0,30 g, glucose : 0,45 g. L'enfant avait présenté un tableau de méningite aiguë à liquide clair, cependant

que son frère de 5 ans 1/2, malade en même temps qu'elle, fut hospitalisé simultanément dans un état gravissime évoquant une polioencéphalite avec réaction méningée lymphocytaire, affection qui évolua fatalement 24 heures après l'admission à l'hôpital.

Ces deux enfants ont été, sans aucun doute, frappée par la même maladie. On a écarté l'hypothèse de la tuberculose, car, malgré la notion d'une primo-infection datant d'un an chez le garçon, sa sœur présente une cuti négative. On a, tout d'abord, écarté également la poliomyélite sur l'absence d'atteinte motrice évidente. La vérification anatomique n'a pu être faite. Pour la jeune malade, les résultats des examens de selles et du LCR pour recherche du virus poliomyélitique ne nous sont pas encore connus. Par contre, la réaction de F. C. décèle un taux d'anticorps anti-Coxsackie T1 à 1/32.

III) *P...*, *Ignace* (2 ans 1/2), hospitalisé dans le Service du Pr. CHAPTAL, à Montpellier, pour « hémiplegie transitoire, avec agglutinines à froid, LCR normal ». La maladie a débuté le 24-9-1954. 2 sérums prélevés les 9^e et 20^e jours (3 déc. et 14 déc.) ont révélé : A. F. : 0, grippe A et B : 0, Orn. : 0, F. Q. : 0, Herpès : 1/32 et 1/64 CML : 1/4 et 1/4, Coxsackie : 1/32 et 1/32.

IV) *P...*, *Marie-Claude* (4 ans), hospitalisée dans le Service du Pr. BERNHEIM. A présenté un syndrome de « Méningite lymphocytaire curable ».

Un sérum fut prélevé 11 jours après l'entrée : Coxsackie : 1/32, Oreillons : 1/16, Herpès : 0, A.F. : 0, Orn. : 0, MG : 0.

V) *D...*, *Jean-Louis*. Enfant de 6 ans ayant présenté une angine diphtérique à 2 ans 1/2 et une coqueluche à 3 ans, fait des angines fréquentes en hiver.

Hospitalisé au Service des Contagieux de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes (Pr. SOHIER), pour un syndrome méningé ayant débuté le 4-3-55, par de l'asthénie, de l'anorexie, puis une céphalée occipitale avec rachialgie et fièvre (38°7). Puis vomissements et température à 39°7, le lendemain. La maladie évolua rapidement sur un mode bénin : il n'existait plus, à l'entrée, qu'une raideur de la nuque et une angine érythémato-pultacée, avec adénopathies cervicales bilatérales. Pas de troubles moteurs. Urines : Sucre : 0, Albumine : 0, LCR : liquide clair, légèrement hypertendu : 115

poly/mm³, 75 lympho. BK : 0, protéines : 0,30 g, glucose : 0,62 g, chlorures : 7,30 g. Hémogramme : GR 4.900.000, GB : 8.600, poly : 79 % (N : 79, B : 0, E : 0) ; mono : 21 % (L : 13, M : 8). Prélèvement rhino-pharyngé : 0. Virologie: grippe (5 mars et 15 mars) A et B : 0. Coxsackie: les premiers sérums sont anti-moplémentaires. Le 20-6-55, Coxsackie T1 : 1/32, T2 1/8, T3 : 1/4.

VI) *T...*, *Michel* (9 ans). Depuis quelques mois : asthénie. Le 11-3-55 entre dans le Service du Pr. JEUNE pour un épisode grip-pal évoquant une primo-infection bacillaire. Début en février 1955, avec une toux et une dyspnée intenses, de l'asthénie et de la fièvre (38°5), céphalées, vomissements, quelques vésicules d'herpès péri-buccales, point douloureux appendiculaire. Ce tableau est en faveur d'une pneumopathie aiguë, que paraît affirmer une ombre radiologique à la base pulmonaire droite. Cuti et ID négatives. Examens virologiques : 16/3/55 : AF : 1/20, strepto MG : 0, Orn. : 0, FQ : 0, Coxsackie: 1/4 T1; 1/64 T2. 18/3/55: AF 1/80.

Après avoir consulté les observations des enfants hospitalisés dont les sérums accusent des taux d'anticorps FC $\geq$ 1/32, on constate que sur 6 jeunes malades, 4 présentaient un syndrome méningé à liquide clair, et 2 une pneumopathie aiguë probablement virale. Y aurait-il là une intervention des virus C ? On ne peut l'affirmer de façon absolument certaine, car les recherches n'ont pas été orientées dans ce sens ; pourtant, les virus Coxsackie peuvent vraisemblablement être à l'origine de ces affections.

DISCUSSION

Depuis leur premier isolement par DALLDORF, en 1947, les virus Cocksackie (ou virus C) ont été retrouvés en de nombreux pays, mais, en France, ils n'ont fait l'objet que d'études très limitées.

Ils sont à l'origine d'infections humaines épidémiques dont les manifestations polymorphes posent souvent des problèmes de diagnostic difficiles. L'examen clinique, indispensable, relève parfois des symptômes caractéristiques de ces viroses, mais la plupart du temps ne fournit que des indications d'orientation.

Les méthodes de diagnostic ont été discutées. La plupart des auteurs attachent une importance capitale à l'isolement des virus dans les selles à la période aiguë de la maladie, et à la recherche des anticorps neutralisant ces mêmes virus dans le sérum des sujets infectés. La réaction de fixation du complément adaptée à l'étude des infections C possède, à vrai dire, quelques inconvénients théoriques. Cependant, en utilisant des antigènes préparés suivant une technique rigoureuse, cette méthode devient beaucoup plus maniable que les autres, tant pour la mise en œuvre d'enquêtes sérologiques, que pour porter un diagnostic isolé. En ne préjugant ni de la spécificité étroite des anticorps sériques fixant le complément, ni de leur signification immunologique, leur présence dans le sérum d'un individu est probablement la preuve d'une infection coxsackie, à un moment donné de son existence. Si, au cours d'une maladie aiguë suspecte, on peut, sur deux sérums, l'un prélevé dès les premiers jours, l'autre pendant la phase de convalescence de l'affection, mettre en évidence une augmentation du taux d'anticorps fixant le complément ou, mieux encore, la formation pure et simple d'anticorps, on a le droit, sans doute, de conclure à une infection coxsackie récente. Il semble que, jointe à un examen rigoureux, clinique et biologique, susceptible d'éliminer toute autre infection par des germes connus, cette méthode ait une valeur diagnostique certaine.

L'épidémiologie des infections coxsackie est à peu près semblable à celle de la poliomyélite : ce sont des maladies d'origine fécale, qui peuvent même avoir des influences réciproques. Nous rapportons les résultats d'une enquête sérologique effectuée par la réaction de fixation du complément chez 382 sujets de tous âges, dont 144 enfants de 0 à 15 ans, atteints de maladies « a priori » sans rapport avec une infection C, et deux populations de jeunes adultes : l'une de 153 malades, hospitalisés pour des affections diverses, l'autre de 85 étudiants en Médecine présumés sains. Tous les sérums ont été examinés au Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine de Lyon (Pr. SOHIER).

Les anticorps sériques fixant le complément en présence des types T1, T2, T3 de virus Coxsackie ne sont pas présents à des dilutions supérieures à 1/32 chez des sujets normaux : ce taux peut être considéré comme une valeur limite significative. Globalement, 40,19 % des jeunes adultes ont des anticorps sériques fixant le complément en présence de T1 à des dilutions égales ou supérieures à 1/4, avec une nette prédominance chez les étudiants en Médecine : 55,12 % contre 30,95 %. Les anticorps pour T2 et T3 sont beaucoup plus rares. Chez l'enfant, on note l'absence d'anticorps en règle générale au-dessous d'un an. Une première augmentation du taux des anticorps se fait entre 1 et 7 ans et, de 7 à 15 ans, les taux, moins importants, semblent rejoindre progressivement ceux de l'adulte.

CONCLUSIONS

Au cours des huit années qui ont suivi la découverte des virus dits de Coxsackie (virus C) de nombreux travaux ont été publiés et le moment paraissait venu de les analyser et d'en dégager les faits essentiels, ce qui est le but de cette étude.

Si les virus C peuvent être à l'origine d'affections bien définies telles que la « Myalgie épidémique », d'une part et « l'Herpangina » d'autre part, et si souvent la première est due aux virus du groupe B tandis que la seconde relève des agents du groupe A, on connaît aussi de nombreuses autres manifestations morbides (états infectieux divers, méningites, etc...) dans le déterminisme desquelles ces virus interviennent et l'on ne saurait affirmer qu'une symptomatologie définie relève toujours d'un virus antigéniquement défini.

Les méthodes d'isolement des virus C et les techniques sérologiques, fixation du complément et neutralisation, sont actuellement satisfaisantes. Elles font l'objet d'un rappel détaillé. Si la réaction de neutralisation apparaît comme étant la plus sûre on ne saurait négliger, malgré les critiques dont elle a fait l'objet, la réaction de fixation du complément qui mérite d'être utilisée.

La mise en œuvre de ces méthodes biologiques a révélé l'existence d'infections inapparentes, suivies de l'élaboration d'anticorps, et aussi d'un portage de virus par des sujets présumés sains ou atteints d'affections dues à d'autres microorganismes, ainsi que d'infections latentes.

Le diagnostic des infections à virus C apparaît de ce fait assez difficile à établir et l'on doit s'entourer de toutes les garanties, l'isolement du virus et l'augmentation nette du taux des anticorps neutralisants ou fixant le complément, au décours de la maladie, étant deux critères satisfaisants mais malheureusement pas toujours mis en évidence.

Les résultats d'une enquête effectuée en France dans trois catégories de populations, deux d'adultes et une d'enfants, par la réaction de fixation du complément en présence de trois souches, révèlent l'existence d'infections inapparentes pour l'une d'entre elles surtout et leur précocité d'apparition chez les petits enfants à partir de deux ans.

Plusieurs problèmes biologiques attendent encore leur solution. Mais dès maintenant les virus C peuvent et doivent être identifiés avec soin et la confrontation des données cliniques, épidémiologiques et biologiques, permettrait de les résoudre.

Le Président de la Thèse,

R. SOHIER.

Vu : Le Doyen,

H. HERMANN.

Vu et permis d'imprimer,

Lyon, le 7 octobre 1955.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

André ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) DESSE (G.), *Rev. du Rhumatisme*, 1952, 19, 297.
- (2) DELPY (J.), *Thèse*, Bordeaux 1953. Union Franç. Impression Edit., Bordeaux.
- (3) DELPY (J.), *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, 84, 780.
- (4) SOHIER (R.), BUISSIÈRE (J. et J.), *Presse méd.*, 1954, 62, 1248.
- (5) DALLDORF (G.) et SICKLES (G. M.), *Science*, 1948, 108, 61.
- (6) MILZER (A.) et BYRD (C. L.), *Science*, 1947, 105, 70.
- (7) QUIGLEY (J. J.), *Ann. Rep. Div. Lab. Res.*, N. Y. State Dep. Health, Albany, 1951, p. 7.
- (8) HIMMELWEIT (F.), FINDLAY (G. M.) et HOWARD (E. M.), *Brit. J. Exper. Path.*, 1950, 31, 809.
- (9) BREESE JR (S. S.) et BRIEFS (A.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1953, 83, 119.
- (10) BRIEFS (A.), BREESE (S. S.), WARREN (J.), et HUEBNER (R. J.), *J. Bact.*, 1952, 64, 237.
- (11) LÉPINE (P.), *Sem. Hôp. Paris*, 1953, 29, 3533.
- (12) SULKIN (S. E.) et WALLIS (H. C.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1952, 81, 151.
- (13) KAPLAN (A. S.) et MELNICK (J. L.), *Am. J. Pub. Health*, 1954, 44, 1174.
- (14) KAPLAN (A. S.) et MELNICK (J. L.), *Am. J. Pub. Health*, 1952, 42, 525.
- (15) MELNICK (J. L.), *Ann. Rev. Microb.*, 1951, 5, 309.
- (16) CLARKE (N. A.) et KABLER (P. W.), *Am. J. Hyg.*, 1954, 59, 119.
- (17) DALLDORF (G.), *Concours méd. Paris*, 1953, 75, 3001.
- (18) CONTRERAS (G.), BARNETT (V. H.) et MELNICK (J. L.), *J. Immunol.*, 1952, 69, 395.
- (19) WALTON (M.) et MELNICK (J. L.), *Pub. Health Rep.*, 1953, 68, 1167.
- (20) SHAW (M.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1952, 79, 718.
- (21) STULBERG (C. S.), SCHAPIRA (R.) et EIDAM (C. R.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1952, 81, 642.

- (22) SICKLES (G. M.), FEORINO (P.) et PLAGER (H.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1955, 88, 22.
- (23) WELLER (T. H.), ROBBINS (F. C.), STODDARD (M. B.), FLORENTINO (G. L.), *J. Immunol.*, 1953, 71, 92.
- (24) STULBERG (C. S.), SCHAPIRA (R.) et EIDAM (C. R.), *J. Immunol.*, 1954, 72, 107.
- (25) GODENE (M. O.) et CURNEN (E. C.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1952, 81, 81.
- (26) HOWES (D. W.), *Austral. J. Exp. Biol.*, 1952, 30, 423.
- (27) LEVADITI (C.), VAISMAN (A.) et HENRY-EVENO (J.), *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82, 754.
- (28) LEVADITI (C.) et HENRY-EVENO (J.), *C. R. Acad. Sci.*, 1953, 236, 1383.
- (29) SULKIN (S. E.), WALLIS (H. C.) et DONALDSON (P.), *J. Infect. Dis.*, 1952, 91, 290.
- (30) KILBOURNE (E. D.), PERRIER (D.), et WILSON (C.), *J. Labor. & Clin. Med.*, 1953, 42, 826.
- (31) DALLDORF (G.) et GIFFORD (R.), *J. Exper. Med.*, 1952, 96, 491.
- (32) VERLINDE (J. D.) et TING (L. K.), *Antonie van Leeuwenhoek*, 1954, 20, 181.
- (33) DALLDORF (G.) et GIFFORD (R.), *J. Exper. Med.*, 1954, 99, 21.
- (34) STANLEY (N. F.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1952, 81, 430.
- (35) SULKIN (S. E.), WALLIS (H. C.), MURPHY (T. P.) Jr., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1953, 83, 184.
- (36) HOWITT (B. F.) et NICHOLS (V. J.), *J. Immunol.*, 1952, 68, 599.
- (37) LEVADITI (C.) et HENRY-EVENO (J.), *C. R. Soc. Biol.*, 1952, 146, 892.
- (38) LEVADITI (C.) et HENRY-EVENO (J.), *C. R. Acad. Sci.*, 1953, 236, 339.
- (39) LEVADITI (C.) et HENRY-EVENO (J.), *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, 84, 778.
- (40) LEVADITI (C.), VAISMAN (A.), et HENRY-EVENO (J.), *Rev. Immunol.*, 1952, 16, 117.
- (41) TOBIN (J. O'H.), *Brit. Med. Bull.*, 1953, 9, 201.
- (42) CHEEVER (F. S.), *J. Immunol.*, 1953, 71, 431.
- (43) DEKKING (F.), Communication écrite à Monsieur le Pr. SOHIER.
- (44) SABIN et al. In : *Viral and Rickettsial Infections of Man*, T. M. RIVERS, 2^e éd., p. 173, J. B. Lippincott C^{ie}, 1952.
- (45) KILBOURNE (E. D.), *Am. J. M. Sc.*, 1952, 224, 93.
- (46) CURNEN (E. C.), SHAW (E. W.) et MELNICK (J. L.), *J. A. M. A.*, 1949, 141, 894.

- (47) FINDLAY (G. M.) et HOWARD (E. M.), *Brit. M. J.*, 1950, 1, 1233.
- (48) SYLVEST (E.), 1934, *Epidemic myalgia : Bornholm disease*. Milford, London.
- (49) RONSE (L.), *Presse méd.*, 1951, 59, 996.
- (50) ZAHORSKY (J.), *South. M. J.*, 1920, 13, 871.
- (51) ZAHORSKY (J.), *Arch. Pediatr.*, 1924, 41, 181.
- (52) HUEBNER (R. J.), COLE (R. M.), BEEMAN (E. A.), BELL (J. A.) et PEERS (J. H.), *J. A. M. A.*, 1951, 145, 628.
- (53) PARROT (R. H.), ROSS (S.), BURKE (F. G.) et RICE (E. C.), *New England J. Med.*, 1951, 245, 275.
- (54) GABINUS (O.), GARD (S.), JOHNNSSON (T.) et PÖLDRE (A.), *Arch. ges. Virusforsch.*, 1952, 5, 1.
- (55) JOHNNSSON (T.) et LINDAHL (J.), *Arch. ges. Virusforsch.*, 1953, 5, 96.
- (56) OKER-BLOM (N.), (1952): Discussion in : *Acta path. et microbiol. scandinav.* Suppl. N° 93, p. 338.
- (57) GALPINE (J. F.) et Mc CRAE (A. D.), *Lancet*, 1953, 1, 372.
- (58) HUBERT (L. M.), *Thèse*, Bordeaux, 1952, N° 40.
- (59) LEROY (C.), *G. M. de France*, 1954, 61, 933.
- (60) VESLOT (J.) et PLEY (J.), *Journal de Médecine et de Chirurgie pratiques*, 1954, 125, 95.
- (61) HOPKINS (J. H. S.), *Brit. M. J.*, 1950, 1, 123.
- (62) Mc NEISH (W. W. W.) et STEWART (C.), *Brit. M. J.*, 1952, 1, 744.
- (63) STEIGMAN (A. J.), KOKKO (U. P.) et SILVERBERG (R. J.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1953, 83, 200.
- (64) WEBB (C. H.) et WOLFE (S. G.), *Am. J. Dis. Child.*, 1950, 80, 245.
- (65) WEBB (C. H.), WOLFE (S. G.) et SIMPSON (V.), *New Orleans Med. Surg. J.*, 1948, 101, 249.
- (66) BOWER (B. D.), GERRARD (J.) et Mc GREGOR (M. E.), *Brit. M. J.*, 31 janv. 1953, 244.
- (67) ZWEYMULLER (E.), *Dtsch. med. Wochenschr.*, 1953, 78, 190.
- (68) STANLEY (N. F.), DORMAN (D. C.), PONSFORD (J.), *J. Immunol.*, 1953, 71, 402.
- (69) VIVELL (O.), GÆDEKE (R.), ROLAND (D.) et SIEVERS (K.), *Dtsch. med. Wochenschr.*, 1952, 77, 983.
- (70) DALLDORF (G.), *Am. J. Pub. Health.*, 1950, 40, N° 12.
- (71) HOWITT (B. F.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1950, 73, 443.
- (72) DALLDORF (G.) et GIFFORD (R.), *New England J. Med.*, 1951, 224, 868.
- (73) LÉPINE (P.), DESSE (G.) et SAUTTER (V.), *Bull. Acad. Méd.*, 1952, 5 et 6, 66.

- (74) TAYLOR (R. M.), RIZK (F.), ABDEL-KADER, *J. Egypt. M. Ass.*, 1953, 36, 479.
- (75) HUMMELER (K.), KIRK (D.), ÖSTAPIAK (M.), *J. A. M. A.*, 1954, 156, 676.
- (76) DUNCAN (D.), RHODES (A. J.), Mc NAUGHTON (G. A.), JOHNSON (C. C.), WOOD (W.), *Canad. J. Pub. Health*, 1955, 46, 1.
- (77) CLARK (E. M.), RHODES (A. J.), KNOWLES (D. S.), RITCHIE (R. C.) et DONOHUE (W. L.), *Canad. J. Pub. Health*, 1950, 41, 51.
- (78) GARD (S.) et JOHNSON (T.), *Acta path. et microbiol. scandinav.*, 1952, suppl. N° 93, p. 332.
- (79) MELNICK (J. L.) et GODMAN (G. C.), *J. Exper. Med.*, 1951, 93, 247.
- (80) MELNICK (J. L.) et KAPLAN (A. S.), *J. Exper. Med.*, 1953, 97, 367.
- (81) JOHNSON (T.), *Arch. ges. Virusforsch.*, 1953, 5, 250.
- (82) CURNEN (E. C.), *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 1950, 26, 335.
- (83) HUEBNER (R. J.), BEEMAN (E. A.), COLE (R. M.), BERGELMAN (P. M.) et BELL (J. A.), *New England J. Med.*, 1952, 247, 285.
- (84) KRAVIS (L. P.), HUMMELER (K.) et SIGEL (M. M.), *Bact. Proc.*, 1952, p. 105.
- (85) WELLER (T. H.), ENDERS (J. F.), BUCKINGHAM (M.) et FINN (J. J.), *J. Immunol.*, 1950, 65, 337.
- (86) THÉLIN (F.) et WIRTH (J.), *Rev. méd. Suisse Rom.*, 1951, 71, 44.
- (87) SCHAEFFER (L. F.), *Nederl. tijdschr. geneesk.*, 1951, 95, 2938.
- (88) STANLEY (N. F.), DORMAN (D. C.) et PONSFORD (J.), *Austral. J. Exp. Biol.*, 1953, 31, 17.
- (89) DISNEY (M. E.), HOWARD (E. M.), WOOD (B. S. B.) et FINDLAY (G. M.), *Brit. M. J.*, 1953, 1, 1351.
- (90) WARIN (J. F.), DAVIES (J. B. M.), SANDERS (F. K.) et VIZOSO (A. D.), *Brit. M. J.*, 1953, 1, 1345.
- (91) DEMPSTER (G.), MITCHELL (S. C.), *Canad. J. Pub. Health*, 1954, 45, 345.
- (92) RHODES (A. J.), CLARK (E. M.), KNOWLES (D. S.), SHIMADA (F. T.), RITCHIE (R. C.) et DONOHUE (W. L.), *Canad. J. Pub. Health*, 1950, 41, 183.
- (93) MELNICK (J. L.), KAPLAN (A. S.), ZABIN (E.), CONTRERAS (G.) et LARKUM (N. G.), *J. Exper. Med.*, 1951, 94, 471.
- (94) STANLEY (N. F.), HAYES (L.) et DORMAN (D. C.), *Austral. J. Exp. Biol.*, 1951, 29, 367.
- (95) STANLEY (N. F.) et DORMAN (D. C.), *Austral. J. Exp. Biol.*, 1953, 31, 9.
- (96) OKER-BLOM (N.) et POHJANPELTO (P.), *Ann. med. exp. biol. fenn.*, 1953, 31, 166.

- (97) FORRESTER (R. M.) et TOBIN (J. O'H.), *Lancet*, 1951, 2, 663.
- (98) MELNICK (J. L.), WALTON (M.) et MYERS (I. L.), *Pub. Health Rep.*, 1953, 68, 1178.
- (99) FUKUMI (H.) et YOKOTA (T.), *Jap. J. M. Sc. & Biol.*, 1952, 6, 201.
- (100) MELNICK (J. L.) et ÆGREN (K.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1952, 81, 621.
- (101) EHRLICH (P.), *Z. Hyg. u. Infektions Krankh.*, 1892, 12, 183.
- (102) MELNICK (J. L.), CLARKE (N. A.) et KRAFT (L. M.), *J. Exper. Med.*, 1950, 92, 499.
- (103) DALLDORF (G.), *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 1950, 26, 329.
- (104) GIFFORD (R.) et DALLDORF (G.), *Am. J. Path.*, 1951, 27, 1047.
- (105) PAPPENHEIMER (A. M.), KUNZ (L. J.) et RICHARDSON (S.), *J. Exper. Med.*, 1951, 94, 45.
- (106) LÉPINE (P.), SAUTTER (V.) et REINIÉ (L.), *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82, 251.
- (107) LÉPINE (P.), CHAUMONT (L.) et BLUSSON (J.), *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82, 648.
- (108) DALLDORF (G.), SICKLES (G. M.), PLAGER (H.) et GIFFORD (R.), *J. Exper. Med.*, 1949, 89, 567.
- (109) MELNICK (J. L.), *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 1950, 26, 342.
- (110) MELNICK (J. L.) et KRAFT (L. M.), *Fed. Proc.*, 1950, 9, 585.
- (111) MELNICK (J. L.) et LEDINKO (N.), *J. Exper. Med.*, 1950, 92, 463.
- (112) BANKER (D.) et MELNICK (J. L.), *Am. J. Hyg.*, 1951, 54, 383.
- (113) CONTRERAS (G.) et MELNICK (J. L.), *J. Immunol.*, 1953, 70, 473.
- (114) VIVELL (O.), SCHAIRER (J.), *Arch. ges. Virusforsch.*, 1953, 5, 84.
- (115) BURY (H. S.) et TOBIN (J. O'H.), *Lancet*, 1952, 2, 267.
- (116) JOHNSON (T.) et LINDAHL (J.), *Arch. ges. Virusforsch.*, 1952-1953, 5, 96.
- (117) KENYON (H.), Mc CRAE (A. D.), DODD (R. J.) et GALPINE (J. F.), *Lancet*, 1952, 2, 153.
- (118) IVANOVICS (G.) et PINTER (M.), *Acta med. Acad. Sc. hung.*, 1953, 4, 157.
- (119) BEEMAN (E. A.), COLE (R. M.) et HUEBNER (R. J.), *Am. J. Hyg.*, 1952, 56, 215.
- (120) JOHNSON (T.), *Arch. ges. Virusforsch.*, 1954, 5, 384.
- (121) PAUL (J. R.), RIORDAN (J. T.) et KRAFT (L. M.), *J. Immunol.*, 1951, 66, 695.
- (122) CASALS (J.), OLITSKY (P. K.) et MURPHY (L. C.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1949, 72, 636.
- (123) CASALS (J.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1949, 70, 339.

- (124) CASALS (J.) et OLITSKY (P. K.), in : *Diagnosis of Viral and Rickettsial Infections*, edited by F. L. Horsfall, Jr., Columbia University Press, New-York, 1949, 57.
- (125) CASALS (J.), *J. Immunol.*, 1947, 56, 337.
- (126) HOWITT (B. F.) et BENEFIELD (U. R.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1950, 73, 90.
- (127) MANIRE (G. P.), SULKIN (S. E.) et FARMER (T. W.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1950, 73, 341.
- (128) DODD (R. L.), *Annual report of the Division of Laboratories and Research, N. Y. State Department of Health.*, Albany, 1951.
- (129) OKER-BLOM (N.) et NIKKILÄ (E.), *Acta path. et Microbiol. Scandinav.*, 1952, suppl. 93, 340.
- (130) KRAFT (L. M.) et MELNICK (J. L.), *J. Exper. Med.*, 1950, 92, 483.
- (131) FULTON (F.) et DUMBELL (K.), *J. Gen. Microbiol.*, 1949, 3, 97.
- (132) LÉPINE (P.), SAUTTER (V.), DELPY (J.) et ARTZET (F.), *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, 84, 684.
- (133) CONTRERAS (G.) et MELNICK (J. L.), *J. Immunol.*, 1953, 70, 484.
- (134) KRAFT (L. M.) et MELNICK (J. L.), *J. Exper. Med.*, 1953, 97, 401.
- (135) KRAFT (L. M.) et MELNICK (J. L.), *J. Immunol.*, 1952, 68, 297.
- (136) CHRISTEN (J. P.), *Rev. méd. Suisse Rom.*, 1952, 72, 725.
- (137) WIRTH (J.), *Rev. Suisse Méd.*, 1952, 41, 457.
- (138) PEILLARD (M. M.), GINESTE (J.), SOHIER (R.), *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, 88, 446.
- (139) KRAFT (L. M.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1952, 80, 498.
- (140) BEEMAN (E. A.) et HUEBNER (R. J.), *J. Immunol.*, 1952, 68, 663.
- (141) CASALS (J.) et OLITSKY (P. K.), *Fed. Proc.*, 1950, 9, 570.
- (142) KUNZ (L. J.), RICHARDSON (S.) et PAPPENHEIMER (A. M.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1952, 79, 488.
- (143) SOHIER (R.), *Revue d'Hygiène et de Médecine sociale*, 1954, 2, 699.
- (144) PRZESMYCKI (F.), BAKOWSKA-KENCZEWA (K.), WALENTYNOWICZ-STANCZYK (R.), *Med. dosw. mikrob.*, 1954, 6, 219.
- (145) KELLY (S. M.), *Am. J. Pub. Health*, 1953, 43, 1532.
- (146) MELNICK (J. L.), EMMONS (J.), COFFEY (J. H.), SCHOOF (H.), *Am. J. Hyg.*, 1954, 59, 164.
- (147) CURNEN (E. C.) (1952), In : *International poliomyelitis Congress, Poliomyelitis papers and discussions presented at the Second International Poliomyelitis Conference*, Lippincott, London.

- (148) CARDELLE (G.), EMBIL (J.) Jr., JIMENEZ (R. M.), CAO (F.), *Rev. cubana pediat.*, 1954, 26, 70.
- (149) LÉPINE (P.), *Figaro Littéraire*, N° 309, du 22 mars 1952.
- (150) MELNICK (J. L.) et KAPLAN (A. S.), *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1950, 74, 812.
- (151) SCHWAB (M.), ALLEN (R.) et SULKIN (S. E.), *J. Trop. Med.*, 1952, 1, 982.
- (152) BUISSIÈRE (J.), *Thèse*, Lyon, N° 60, Janody édit., 1953.

